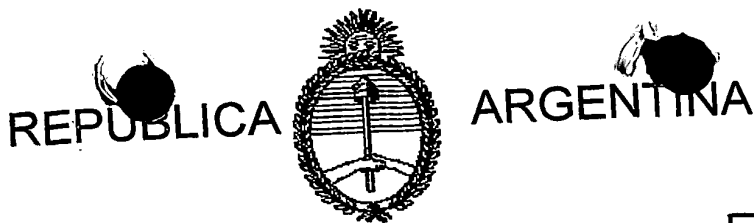


COPIA OFICIAL
CONVENIO DE PARÍS
- LISBOA 1958 -



REPUBLICA

ARGENTINA

PCT/GB 2003 / 001380

[Handwritten signature]

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Instituto Nacional de la Propiedad Industrial

REC'D 20 JUN 2003

WIPO

PCT

CERTIFICADO DE DEPOSITO

ACTA N° P 02 01 01170

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

Ma 02 se presentó a nombre de PHYTOTECH LIMITED. con domicilio en
CA PHIRE, REINO UNIDO (GB).

una Patente de Invención relativa a: "DERIVADOS DE SAPOGENINAS, SINTESIS
Y USO, Y MÉTODOS EN BASE A SU USO".

cuya descripción y dibujos adjuntos son copia fiel de la documentación depositada en el Instituto
Nacional de la Propiedad Industrial.

Se certifica que lo anexado a continuación en fojas OCHENTA es copia fiel de los
registros de la Administración Nacional de Patentes de la República Argentina de los documentos
de la solicitud de Patentes de Invención precedentemente identificada.

A PEDIDO DEL SOLICITANTE Y DE CONFORMIDAD CON LO ESTABLECIDO
EN LA CONVENCION DE PARIS (LISBOA 1958), APROBADO POR LEY 17.011, EXPIDO
LA PRESENTE CONSTANCIA DE DEPOSITO EN BUENOS AIRES, REPUBLICA
ARGENTINA, A LOS VEINTINUEVE DIAS DEL MES DE ABRIL DE 2003.

[Handwritten signature]
Ing. LUIS M. NOGUÉS
Comisario
Adm. Nacional de Patentes

BEST AVAILABLE COPY

Caso No. 19667



Memoria Descriptiva
de solicitud de
Patente de Invención

Relativa a:

**DERIVADOS DE SAPOGENINAS, SÍNTESIS Y USO, Y MÉTODOS
EN BASE A SU USO**

A favor de:

PHYTOTECH LIMITED



19667

DERIVADOS DE SAPOGENINAS, SÍNTESIS Y USO, Y MÉTODOS EN BASE A SU USO

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a sapogeninas y sus derivados, síntesis y uso, y métodos en base a su uso.

El uso de las sapogeninas y derivados se encuentra en el tratamiento de la disfunción cognitiva, neurodegeneración no cognitiva, degeneración neuromuscular no cognitiva, y pérdida de receptores. En un aspecto adicional, la invención se refiere a composiciones para su uso en dichos tratamientos.

Antecedentes de la Invención

La disfunción cognitiva es una característica de condiciones y síndromes distintos de la demencia, tales como enfermedad de Alzheimer (AD), demencia senil del tipo de Alzheimer (SDAT), demencia corporal de Lewi y demencia vascular. Un grado menor de disfunción cognitiva es también una característica de ciertas condiciones y síndromes de no demencia, tales como deficiencia cognitiva leve (MCI), deficiencia de memoria asociada a la edad (AAMI) y autismo.

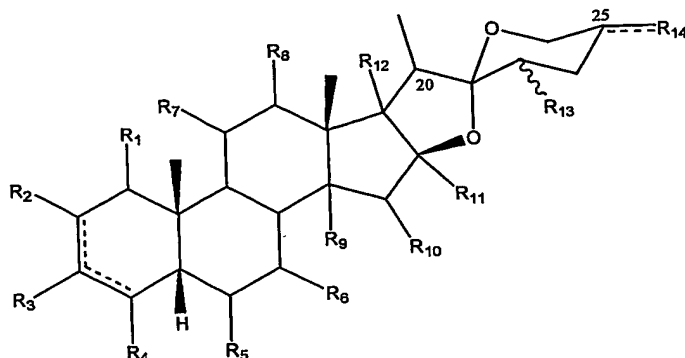
La neurodegeneración no cognitiva (es decir, neurodegeneración en ausencia de disfunción cognitiva) y degeneración neuromuscular no cognitiva (es decir, degeneración neuromuscular en ausencia de disfunción cognitiva) es una característica de las condiciones y síndromes tales como enfermedad de Parkinson, distrofia muscular incluyendo distrofia muscular

facioescapulohumeral (FSH), distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker y distrofia muscular de Bruce, distrofia de Fuch, distrofia miotónica, distrofia corneal, síndrome de distrofia simpática (RSDSA), distrofia neurovascular, miastenia grave, enfermedad de Eaton-Lambert, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y esclerosis múltiple.

La pérdida de receptores - particularmente la pérdida de receptores nicotínicos y/o muscarínicos y/o receptores y/o adreno-receptores de dopamina - es una característica de algunas o todas las condiciones y síndromes anteriores. Dicha pérdida de receptores en la ausencia de deficiencia cognitiva, neural y neuromuscular también es una característica de las condiciones y síndromes tales como hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica, asma, susceptibilidad a insuficiencia cardíaca y degeneración macular.

Las condiciones y síndromes son problemas graves en crecimiento en todas las sociedades en donde, debido a un incremento en la probabilidad de vida y control de enfermedades adventicias, el perfil demográfico se está extendiendo de modo creciente hacia una población con más edad. Se requieren urgentemente agentes que puedan tratar o ayudar en el manejo o prevención de dichos trastornos.

WO-A-01/23406, cuya divulgacion se incorpora en el presente por referencia, reivindica, entre otros compuestos, derivados de sapogenina de la fórmula general (I):



y sus estereoisómeros y mezclas racémicas, sus pro-fármacos y sales farmacéuticamente aceptables, caracterizados porque:

-R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₁₀, son cada uno, ya sea H OH, -O, y OR, caracterizados porque R = alquilo opcionalmente sustituido, acilo opcionalmente sustituido, carbamoilo opcionalmente sustituido, alcóxicarbonilo;

-R₉, R₁₂, R₁₁, R₁₃ puede ser ya sea H, OH, OR caracterizados porque R = alquilo opcionalmente sustituido, acilo opcionalmente sustituido, carbamoilo opcionalmente sustituido, alcóxicarbonilo;

-R₁₄ = grupo alquilo opcionalmente sustituido,

.... representa un enlace doble opcional,

pero excluyendo en donde simultáneamente:

-R₁=R₂=R₄=R₅=R₆=R₇=R₈=R₁₀=R₁₁=R₉=R₁₂=R₁₃=H,

-R₃=βOH,

-R₁₄=CH₃

-el grupo metilo en C22 es α,

-el C20 es α, y existe una configuración en S en C25;

y el uso de estos compuestos como agentes para incrementar el

número de receptores muscarínicos o mejorar la función de receptores muscarínicos en un animal humano o no humano, más particularmente para tratar la disfunción cognitiva en enfermedades, y más particularmente aún para el tratamiento de disfunción cognitiva en un paciente que sufre de una enfermedad seleccionada de AD, SDAT, enfermedad de Parkinson, demencia corporal de Lewi, autismo, miastenia grave, enfermedad de Eaton-Lambert, hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica y enfermedades y problemas asociados con envejecimiento.

De acuerdo con las definiciones contenidas en la descripción de WO-A-01/23406, en los grupos variables de la fórmula anterior (I):

“Acilo” significa un grupo H-CO o alquilo-CO caracterizado porque el grupo alquilo es como se define a continuación. Los acilos recomendados contienen un alquilo menor. Ejemplos de grupos acilo incluyen formilo, acetilo, propanoilo, 2-detilpropanoilo, butanoilo y palmitoilo;

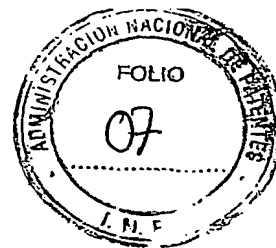
“Alquilo” significa un grupo hidrocarburo alifático que puede ser recto o ramificado que tiene alrededor de 1 a 20 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilo recomendados tienen 1 a alrededor de 12 átomos de carbono en la cadena. “Ramificado” significa que uno o más grupos alquilo menores tales como metilo, etilo o propilo están unidos a una cadena alquilo lineal. “Alquilo menor” significa alrededor de 1 a 4 átomos de carbonos en la cadena que puede ser recta o ramificada. Ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *t*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, 3-pentilo;

“Opcionalmente sustituido” significa que dicho grupo puede ser



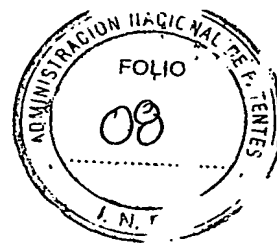
sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, e incluyen halo, alquilo, cicloalquilo, hidroxilo, alcoxi, amino, acilamino, arilo, aroilamino, carboxi, alcóxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, heteroalralcoxicarbonilo, carbamoilo opcionalmente sustituido;

“Farmacéuticamente aceptable” significa que, dentro del alcance del criterio médico acertado, es adecuado para usarse en contacto con las células de humanos y animales menores sin toxicidad, irritación y respuesta alérgica indebida y similares, y se encuentran de manera proporcional con un ratio de beneficio/riesgo razonable. “Profármacos farmacéuticamente aceptables” significa aquellos profármacos de los compuestos que, dentro del alcance del criterio médico acertado, son adecuados para usarse en contacto con los tejidos de humanos y animales menores con toxicidad, irritación y respuesta alérgica indebida y similares, se encuentran de manera proporcional con un ratio de beneficio/riesgo razonable, y son efectivos para su uso propuesto, así como formas zwitteriónicas, en donde sea posible, de los compuestos. El término “profármaco” significa compuestos que se transforman rápidamente en vivo para producir el compuesto base de la fórmula anterior, por ejemplo mediante hidrólisis en la sangre. Los grupos funcionales que se pueden transformar rápidamente, mediante segmentación metabólica, en vivo forman una clase de grupos que reaccionan con el grupo carboxilo. Debido a la facilidad con la que los grupos metabólicamente segmentables de los compuestos son segmentados en vivo, los compuestos que contienen dichos grupos actúan como profármacos. Una exposición exhaustiva de profármacos se proporciona en los siguientes: Design of Prodrugs (Diseño de Profármacos), H.



Bundgaard, ed., Elsevier, 1985; Methods in Enzymology (Métodos en Enzimología), K. Widder y otros, Ed., Academic Press, 42, p. 309-396, 1985; A Textbook of Drug Design and Development (Un Texto de Diseño y Desarrollo de Fármacos), Krogsgaard-Larsen y H. Bundgaard, ed., Capítulo 5; Design and Applications of Prodrugs (Diseño y Aplicaciones de Profármacos), p. 113-1191; Advanced Drug Delivery Reviews (Revisiones de Administración de Fármacos Avanzados), H. Bundgaard, 8, p. 1-38, 1992; Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, p. 285, 1988; Chem. Pharm. Bull., N. Nakeya y otros, 32, p. 692, 1984; Prodrugs as Novel Delivery Systems (Profármacos como Nuevos Sistemas de Entrega), T. Higuchi y V. Stella, Vol. 14 de la Serie Symposium A.C.S. y Bioreversible Carriers in Drug Design (Portadores Bioreversibles en el Diseño de Fármacos), Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, los cuales se incorporan en el presente por referencia;

“Sales farmacéuticamente aceptables” significa las sales de adición ácida atóxicas, inorgánicas y orgánicas, y sales de adición básicas, de los compuestos. Estas sales se pueden preparar en vivo durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos. En particular, las sales de adición ácida se pueden preparar haciendo reaccionar de forma separada el compuesto purificado en su forma base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal que se forma de este modo. Véase, por ejemplo, S.M. Berge, y otros, Pharmaceutical Salts, J. Pharm. Sci., 66: p.1-19 (1977) la cual se incorpora en el presente por referencia. Las sales de adición básicas también se pueden preparar haciendo reaccionar de



manera separada el compuesto purificado en su forma ácida con una base orgánica o inorgánica y aislando la sal que se forma de este modo. Las sales de adición básicas incluyen sales de metal y amina farmacéuticamente aceptables.

De acuerdo con la descripción en WO-A-01/23406, la efectividad de las sapogeninas de la fórmula general I, incluyendo sus estereoisómeros y mezclas racémicas, sus profármacos y sales farmacéuticamente aceptables se atribuye al menos en parte a una actividad de los compuestos para normalizar el número de receptores, es decir, para prevenir la disminución en el número de receptores con el tiempo y también para restaurar el número de receptores desde un número deprimido a niveles normales (página 20, líneas 6 a 9).

DE-A-4303214, cuya divulgación se incorpora en el presente por referencia, describe el uso de un rango muy amplio de saponinas y sapogeninas en el tratamiento de un amplio rango de enfermedades virales, pero sin datos que puedan permitirle a un experto en la técnica seleccionar un compuesto recomendado para cualquier enfermedad viral particular. A pesar que se menciona la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, estas condiciones son conocidas por ser de origen no viral, con el resultado que no se puede discernir ninguna divulgación relevante en el documento.

WO-A-/16786 (publicado el 8 de abril de 1999), cuya divulgación se incorpora en el presente por referencia, describe el uso de saponinas naturales para el tratamiento de la demencia. Las saponinas tienden a ser solubles en agua, mientras que las sapogeninas son solubles en lípidos y

por lo tanto, las saponinas son menos efectivas en cruzar la barrera sangre-cerebro.

La Solicitud de Patente China No. CN-A-1096031, cuya divulgación se incorpora en el presente por referencia, describe el uso de la sapogenina de espirostano, sarsasapogenina, en la regulación de dos vías de receptores β -adrenérgicos y M-colinérgicos. No se sugiere ninguna actividad farmacéutica específica. Sin embargo, en “Synthesis and Applications of Isotopically Labelled Compounds (Síntesis y Aplicaciones de Compuestos Marcados Isotópicamente)”, 1998, páginas 315-320, Yi y otros describe el uso de la sarsasapogenina en el tratamiento de demencia senil.

En los casos de enfermedad de Parkinson, miastenia grave, enfermedad de Eaton-Lambert, hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica, sin embargo, la disfunción cognitiva no es un síntoma primario, a pesar que puede estar presente como uno de los posibles síntomas secundarios. Adicionalmente, estas condiciones no son enfermedades virales o demencias. Muchos de estos trastornos son los denominados trastornos de “espectro”, en los cuales se presenta un amplio rango de combinaciones de síntomas, en un amplio rango de gravedades relativas. Por lo tanto, en muchos casos, no es necesario un tratamiento para la disfunción cognitiva (por ejemplo, demencia).

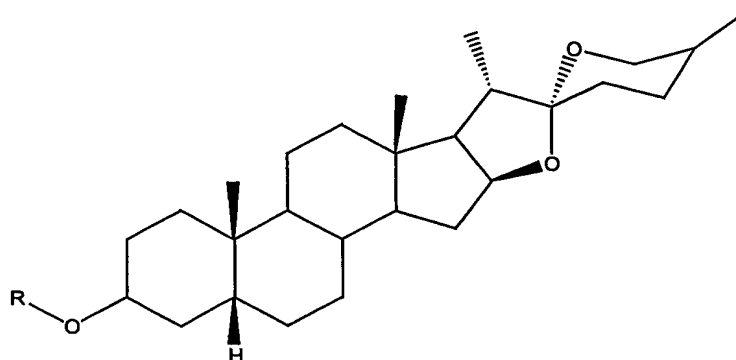
La presente invención se basa en nuestro descubrimiento que ciertas sapogeninas y sus derivados, incluyendo compuestos que se encuentran dentro de la fórmula I como se definen en WO-A-01/23406, tienen una actividad sorprendente contra la neurodegeneración no cognitiva y degeneración neuromuscular no cognitiva, así como contra la pérdida de

receptores en la ausencia de la deficiencia cognitiva, neural y neuromuscular. Este descubrimiento permite el tratamiento mejorado de ciertos trastornos de espectro no viral y trastornos ajenos al espectro en los que la disfunción cognitiva no es un síntoma primario, tal como, por ejemplo, enfermedad de Parkinson, distrofia muscular, incluyendo distrofia muscular facioescapulohumeral (FSH), distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker y distrofia muscular de Bruce, distrofia de Fuch, distrofia miotónica, distrofia corneal, síndrome de distrofia simpática (RSDSA), distrofia neurovascular, miastenia grave, enfermedad de Eaton-Lambert, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y esclerosis múltiple, hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica, asma, susceptibilidad a insuficiencia cardíaca, y degeneración macular.

Asimismo, hemos descubierto que ciertos compuestos tienen actividad contra disfunción cognitiva, la cual no se divulgó previamente.

Breve Descripción de la Invención

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de compuestos de la fórmula general II:



caracterizados porque el grupo R se selecciona de hidrógeno;

alquilcarbonilo; o alcoxicarbonilo; caracterizados porque cualquier grupo alquilo es opcionalmente sustituido con arilo, amino, mono- o di-alquil-amino, un residuo de ácido carboxílico (-COOH), o cualquier combinación de los mismos;

(incluyendo todos los estereoisómeros y mezclas racémicas de los mismos), y sus sales farmacéuticamente aceptables;

en el tratamiento o prevención de, o en la preparación de composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas, productos alimenticios, suplementos alimenticios y bebidas) para el tratamiento o prevención de (i) neurodegeneración no cognitiva, (ii) degeneración neuromuscular no cognitiva, o (iii) pérdida de receptores en la ausencia de insuficiencia cognitiva, neural y neuromuscular, en animales humanos y no humanos que sufren de dichas condiciones o son susceptibles a las mismas.

Más particularmente, el tratamiento se puede aplicar a animales humanos y no humanos que sufren de cualquiera de las siguientes condiciones: enfermedad de Parkinson, distrofia muscular incluyendo distrofia muscular facioescapulohumeral (FSH), distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker y distrofia muscular de Bruce, distrofia de Fuch, distrofia miotónica, distrofia corneal, síndrome de distrofia simpática (RSDSA), distrofia neurovascular, miastenia grave, enfermedad de Eaton-Lambert, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple, hipotensión postural síndrome de fatiga crónica, asma, susceptibilidad a insuficiencia cardíaca y degeneración macular.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona el uso

de los compuestos de la fórmula II caracterizada porque el grupo R se selecciona de hidrógeno; alquilcarbonilo; o alcóxicarbonilo; caracterizado porque cualquier grupo alquilo es opcionalmente sustituido con arilo, amino, mono-alquil-amino, di-alquil-amino, un residuo de ácido carboxílico (-COOH), o cualquier combinación del mismo; siempre que:

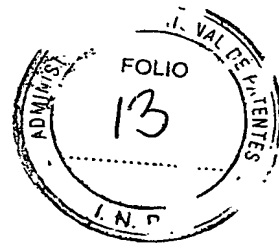
R no es hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que la estereoquímica de C3 es simultáneamente α y la de C25 sea S,

R no es etóxicarbonilo no sustituido cuando la estereoquímica de C3 es simultáneamente S(β) y la de C25 es R; y

R no es succinilo cuando la estereoquímica de C3 es simultáneamente S(β) y la de C25 es S o la estereoquímica de C3 es R(α) y la de C25 es R;

(incluyendo, con sujeción a las condiciones antes mencionadas, todos los esteroisómeros y mezclas racémicas de los mismos), y sus sales farmacéuticamente aceptables, en el tratamiento o prevención de, o en la preparación de composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas, productos alimenticios, suplementos alimenticios y bebidas) para el tratamiento o prevención de (i) disfunción cognitiva, (ii) neurodegeneración no cognitiva, (iii) degeneración neuromuscular no cognitiva, o (iv) pérdida del receptor en la ausencia de deficiencia cognitiva, neural y neuromuscular, en animales humanos y no humanos que sufren de dichas condiciones o son susceptibles a las mismas.

En un aspecto, el grupo C₂₅ metilo está en la configuración S; estos compuestos de la invención son sarsasapogenina y episarsasapogenina y derivados de las mismas. En otro aspecto, el grupo C₂₅ metilo está en la



configuración R; estos compuestos de la invención son esmilagenina y epismilagenina o derivados de los mismos.

La invención también proporciona métodos correspondientes para el tratamiento de animales humanos y no humanos, y composiciones que contienen los agentes activos para usarse en los métodos del tratamiento. Adicionalmente, ciertos agentes activos, así como ciertos intermedios usados en los métodos para la preparación de los agentes activos, son nuevos, y ellos mismos constituyen aspectos adicionales de la presente invención, así como lo hacen los métodos para la preparación de los agentes activos. Estos aspectos se tratan con más detalles a continuación.

Descripción Detallada de la Invención

Agentes Activos

En la definición anterior de la fórmula II:

Sustituyentes opcionales de amino, mono-alquil-amino y di-alquil-amino de grupos alquilo, cuando estén presentes, son preferiblemente un mono-sustituyente en la posición α del grupo alquilo.

Los sustituyentes $-\text{COOH}$ opcionales de grupos alquilo, cuando están presentes, pueden estar en el terminal o en cualquier otra posición del grupo alquilo.

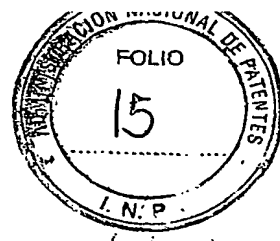
“Alquilo” significa un grupo de hidrocarburo alifático que puede ser recto o ramificado que tiene alrededor de 1 a 20 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilo recomendados tienen de 1 a alrededor de 12 átomos de carbono en la cadena. “Ramificado” significa que uno o más grupos alquilo menor tales como metilo, etilo o propilo están unidos a una cadena alquilo lineal. “Alquilo menor” significa alrededor de 1 a 4 átomos

de carbono en la cadena que se puede ser recta o ramificada. Ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *t*-butilo, *s*-butilo, *n*-pentilo, 3-pentilo.

“Arilo” significa cualquier grupo que comprende un anillo aromático o sistema de anillos condensados, y preferiblemente contiene hasta 12 átomos de carbono. Un ejemplo de grupo arilo es el grupo fenilo. Un grupo arilo puede ser opcionalmente mono- o poli-sustituido, por ejemplo, por sustituyentes independientemente seleccionados de halo (es decir, cloro o bromo), alquilo, cicloalquilo, hidroxilo, alcoxi, amino, nitro, acilamino, carboxi y alcoxycarbonilo.

“Residuo de ácido carboxílico” significa el grupo -COOH.

“Sales farmacéuticamente aceptables” significa las sales de adición ácida atóxicas, inorgánicas y orgánicas, y sales de adición básicas, de compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y purificación final del compuesto en su forma base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal que se forma de este modo. Véase, por ejemplo S.M. Berge, y otros, Pharmaceutical Salts (Sales Farmacéuticas), J. Pharm. Sci., 66: p.1-19 (1977) que se incorpora en el presente por referencia. Las sales de adición básicas también se pueden preparar haciendo reaccionar de manera separada el compuesto purificado en su forma ácida con una base orgánica o inorgánica y aislando la sal que se forma de este modo. Las sales de adición básicas incluyen sales de metal o amina farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de sales de adición ácidas adecuadas son aquellas que



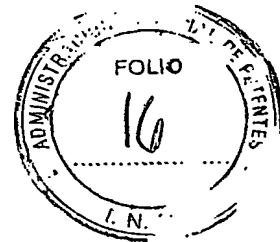
se forman con ácidos a partir de ácidos clorhídricos, sulfúricos, fosfóricos y nítricos. Ejemplos de sales de adición básicas adecuadas son aquellas que se forman con bases seleccionadas de hidróxido sódico, hidróxido potásico e hidróxido amónico.

“Farmacéuticamente aceptable” significa que el material, dentro del alcance del criterio médico y veterinario es adecuado para usarse en contacto con las células de humanos y animales menores sin la toxicidad, irritación, respuesta alérgica indebidas y similares, y se encuentran de manera proporcional en el ratio de beneficio/riesgo razonable.

En la fórmula II anterior, -OR puede, por ejemplo, ser seleccionado de uno de los siguientes (a menos que se incluya por una condición): hidroxí, catilato (etoxicarboniloxi), acetato, succinato, propionato, butirato, valerato, isovalerato, caproato, isocaproato, dietilacetato, octanoato, decanoato, laurato, miristato, palmitato, estearato, benzoato, fenilacetato, fenilpropionato, cinnamato, p-nitrobenzoiloxi, 3,5-dinitrobenzoloiloxi, p-clorobenzoiloxi, 2,4-diclorobenzoiloxi, p-bromobenzoiloxi, m-bromobenzoliloxi, p-metoxibenzoiloxi, ftalilo, glicinato, alaninato, valinato, fenilalaninato, isoleucinato, metioninato, argininato, aspartato, cisteinato, glutaminato, histidinato, lisinato, prolinato, serinato, treoninato, triptofanato, tirosinato, fumerato y maleato.

En la fórmula II anterior, el grupo R puede, por ejemplo, ser seleccionado a partir del alquilo menor y alcoxi menor, opcionalmente sustituido con un residuo de ácido carboxílico terminal (-COOH).

De los compuestos de la fórmula general II y sus sales farmacéuticamente aceptables particularmente se recomiendan los



siguientes compuestos (a menos que se excluyan por una condición):

sarsasapogenina

catilato de sarsasapogenina

acetato de sarsasapogenina

succinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

episarsasapogenina

catilato de episarsasapogenina

acetato de episarsasapogenina

succinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

esmilagenina

catilato de esmilagenina

acetato de esmilagenina

succinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

epismilagenina

catilato de epismilagenina

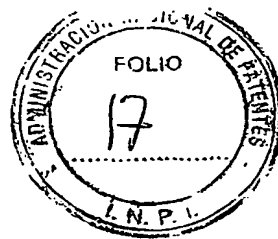
acetato de epismilagenina

succinato de epismilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

glicinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

glicinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

glicinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo



glicinato de epismilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de epismilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de epismilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

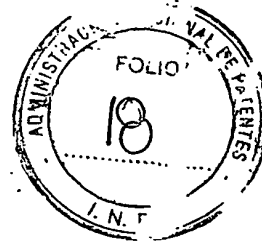
fenilalaninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de epismilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

isoleucinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

isoleucinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables



del mismo

isoleucinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

isoleucinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

metioninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

metioninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

metionato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

metionato de epismilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Un agente activo particularmente recomendado es episarsasapogenina y sus ésteres de catilato, acetato, succinato, glicinato, alaninato, valinato, fenilalaninato, isoleucinato y metioninato, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los agentes activos se pueden formular para su administración como profármacos farmacéuticamente aceptables, y dicha expresión se deberá entender en la misma forma como se define en WO-A-01/23406, mencionado anteriormente. Ejemplos de dichos profármacos incluyen formas de los compuestos 3-OH en los que la porción en la posición-3 es un sulfonilo ($-\text{OSO}_3\text{H}$), fosfonilo $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH}_2)$, grupo arilcarbonilo opcionalmente sustituido o alquil-carbamoilo.

Composiciones y Usos

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para tratar o prevenir neurodegeneración no cognitiva, degeneración neuromuscular no cognitiva, o pérdida del receptor en la ausencia de deficiencia cognitiva, neural o neuromuscular, en un animal humano o no humano en necesidad del mismo, el cual comprende administrar a dicho animal humano o no humano una dosificación efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para tratar o prevenir la disfunción cognitiva en un animal humano o no humano en necesidad del mismo, el cual comprende administrar a dicho animal humano o no humano una dosificación efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; siempre que : R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C3 sea α y la de C25 sea S; R sea etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 sea R; y R no sea succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 sea S, o la estereoquímica de C3 sea R(α) y la de C25 sea R.

El agente activo se puede administrar en la forma de una composición que comprende el agente activo y cualquier componente adicional. La composición, por ejemplo, puede ser una composición farmacéutica (medicamento), alimento, suplemento alimenticio o bebida. Dicha composición puede contener una mezcla de los compuestos

especificados, y/o sus sales farmacéuticamente aceptables.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición que tiene actividad contra la neurodegeneración no cognitiva, degeneración neuromuscular no cognitiva, o pérdida del receptor en ausencia de la deficiencia cognitiva, neural o neuromuscular, en un animal humano o un humano, la cual comprende una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, se proporciona una composición que tiene actividad contra la disfunción cognitiva en un animal humano o no humano, la cual comprende administrar a dicho animal humano o no humano una dosificación efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; siempre que: R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C3 sea α y la de C25 sea S; R sea etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 es R; y R no sea succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 sea S, o la estereoquímica de C3 sea R(α) y la de C25 sea R.

La expresión "composición farmacéutica" en el contexto de esta invención significa una composición que comprende adicionalmente un agente activo y que comprende portadores, diluyentes, adyuvantes, excipientes, o vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes preservantes, rellenos, agentes desintegrantes, agentes humectantes,

agentes emulsificantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes aromatizantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes de dispensación, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y forma de dosificación.

Los términos “productos alimenticios”, “suplementos alimenticios” y “bebida” usados en el presente tienen los significados normales para dichos términos, y no se restringen a preparaciones farmacéuticas.

La dosificación del agente activo variará ampliamente, dependiendo de la severidad de los síntomas que se van a tratar o que se deben prevenir. La selección de dosificaciones adecuadas se encuentra dentro de la capacidad de un experto en la técnica, sin la carga indebida. La dosificación del agente activo, por ejemplo, puede ser mayor que alrededor de 0,3 mg/kg de peso corporal, administrado de preferencia una vez al día. Más típicamente, la dosificación será entre alrededor de 1 a 25 mg/kg, por ejemplo, entre alrededor de 1 y 10 mg/kg, administrada de preferencia una vez al día. Las composiciones se puede formular adecuadamente como formas de dosificación, adaptarse para administrar una dosificación de unidad entre alrededor de 1 y 10 mg/kg al paciente, el número y frecuencia de administraciones en un período de tiempo particular que será según se indique. Para uso humano, la dosificación puede ser de preferencia entre alrededor de 70 y 700 mg por día.

“Formas de dosificación farmacéuticamente aceptables” significa formas de dosificación de los compuestos o composiciones de la invención, e incluye, por ejemplo, tabletas, grageas, polvos, elixires, jarabes,

preparaciones líquidas, incluyendo suspensiones, aerosoles, pastillas inhalantes, pastillas, emulsiones, soluciones, gránulos, cápsulas y supositorios, así como preparaciones líquidas para inyecciones, incluyendo preparaciones de liposomas. Las técnicas y formulaciones generalmente se pueden encontrar en Remington, Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

En general, la referencia en el presente a la presencia de un grupo especificado de compuestos incluye dentro de su alcance la presencia de una mezcla de dos o más de dichos compuestos.

De acuerdo con un aspecto adicional de esta invención, se proporciona un método para el tratamiento de disfunción cognitiva en un paciente que sufre de una de las siguientes condiciones: enfermedad de Alzheimer, SDAT, AAMI, demencia corporal de Lewi o autismo, cuyo método comprende administrar al paciente una cantidad farmacológicamente efectiva de un compuesto de la fórmula II o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; siempre que: R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C3 sea α y la de C25 sea S; R no sea etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 sea R; y R no sea succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 sea S, o la estereoquímica de C3 sea R(α) y la de C25 sea R.

De acuerdo con otro aspecto de esta invención, se proporciona un método para mejorar la función cognitiva en un animal humano o no humano, cuyo método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define



anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; siempre que: R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C3 sea simultáneamente α y la de C25 sea S; R no sea etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 sea R; y R no sea succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 sea S(β) y la de C25 sea S, o la estereoquímica de C3 sea R(α) y la de C25 sea R. El tratamiento puede ser un método no terapéutico practicado en un paciente normal para mejorar su función cognitiva.

De acuerdo con un aspecto adicional de esta invención, se proporciona un método para el tratamiento de (i) neurodegeneración no cognitiva, (ii) degeneración neuromuscular no cognitiva, o (iii) pérdida del receptor en la ausencia de deficiencia cognitiva, neural o neuromuscular, en un animal humano o no humano en un paciente que sufre de una de las siguientes condiciones: enfermedad de Parkinson, miastemia grave, enfermedad de Eaton-Lambert, hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Huntington, distrofia muscular incluyendo distrofia muscular facioescapulohumeral (FSH), distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, y distrofia muscular de Bruce, distrofia Fuch, distrofia miotónica, distrofia corneal, síndrome de distrofia simpática refleja (RSDSA), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple, degeneración macular, asma y susceptibilidad a insuficiencia cardíaca, cuyo método comprende administrar al paciente una cantidad farmacológicamente efectiva de un compuesto de la fórmula II o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los métodos para mejorar la función cognitiva y neurológica y los métodos para tratar ciertas condiciones, como se define anteriormente, se puede lograr administrando el compuesto o composición o medicamento, según sea el caso, en la forma de una composición farmacéutica, producto alimenticio, suplemento alimenticio o bebida.

La invención también proporciona el uso de uno o más compuestos de la fórmula II o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente en una composición farmacéutica, producto alimenticio, suplemento alimenticio o bebida en un método para el tratamiento de: enfermedad de Parkinson, miastemia grave, enfermedad de Eaton-Lambert, hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Huntington, distrofia muscular incluyendo distrofia muscular facioescapulohumeral (FSH), distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, y distrofia muscular de Bruce, distrofia Fuch, distrofia miotónica, distrofia corneal, síndrome de distrofia simpática refleja (RSDSA), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple, degeneración macular, asma y susceptibilidad a insuficiencia cardíaca.

La invención también contempla el uso de uno o más compuestos de la fórmula II o de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, siempre que: R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C3 sea α y de C25 es S; R no sea etoxicarbonilo no sustituido cuando la estereoquímica de C3 sea simultáneamente S(β) y la de C25 sea R; y R no sea succinilo cuando la estereoquímica simultáneamente de C3 es S(β) y la de C25 sea S, o la estereoquímica de C3 sea R(α) y la de C25 sea R; como un ingrediente en

una composición farmacéutica, producto alimenticio, suplemento alimenticio o bebida en un método para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, SDAT, AAMI, MCI y autismo.

Preparación de Compuestos para Usarse en la Invención

La esmilagenina, epismilagenina, sarsasapogenina y episarsasapogenina son materiales que se encuentran disponibles en el mercado. Los proveedores incluyen, por ejemplo, a Sigma Aldrich, Research Plus Inc. y Steraloids Inc. Los métodos preparativos para estos materiales también se encuentran en la literatura (por ejemplo, una preparación de episarsasapogenina se incluye en JACS p.5225 (1959)). La episarsasapogenina se puede preparar por reducción de sarsasapogenona usando un agente reductor de hidruro de metal. La sarsasapogenona se puede preparar usando el método de Lajis y otros, Steroids, 1993 58, 387-389.

Asimismo, como material de inicio, sapogeninas no sustituidas pueden presentarse de manera natural en un rango de una especie vegetal de planta, en particular plantas del género Smilax, Asparagus, Anemarrhena, Yucca o Agave. Cuando esmilagenina o sarsasapogenina se usa de acuerdo con la presente invención, puede encontrarse en forma de extracto vegetal, o material vegetal en polvo deshidratado, derivado de una planta del género Smilax, Asparagus, Anemarrhena, Yucca o Agave.

Los compuestos de la fórmula II, disintos que aquéllos con $R=H$, pueden prepararse usando técnicas convencionales de compuestos en los que $R=H$. La reacción recomendada es una reacción de sustitución nucleofílica, en donde un compuesto de la fórmula II caracterizado porque

$R=H$ se hace reaccionar con un compuesto de fórmula



que se selecciona de hidrógeno; alquilcarbonilo; alcóxicarbonilo; caracterizado porque cualquier grupo alquilo es opcionalmente sustituido con arilo, amino, mono-alquil-amino, di-alquil-amino, un residuo de ácido carboxílico ($-COOH$), o una combinación de éstos; y L es un grupo saliente, bajo condiciones adecuadas para la sustitución nucleofílica.

El compuesto L-R, por ejemplo, puede ser un ácido carboxílico, o si fuera apropiado, un anhídrido, o un haluro de acilo (por ejemplo, un cloruro de acilo). Por ejemplo, cuando R es una porción catilato (etoxicarbonilo), el compuesto L-R puede ser adecuadamente cloroformiato de etilo.

La reacción se realiza en una base como piridina, opcionalmente en presencia de un ácido como ácido clorhídrico.

Los detalles de la reacción para las reacciones de sustitución nucleofílica son bien conocidos. Véase, por ejemplo, RC Larock, en Comprehensive Organic Transformations (Transformaciones Orgánicas Integrales), VCH publishers, 1989.

En las reacciones descritas en el presente puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo, grupos hidroxilo, carboxi o amino, en donde éstos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores convencionales pueden usarse de acuerdo con la práctica estándar. Para conocer los ejemplos, véase TW Green y PGM Wuts, en "Protective Groups in Organic Chemistry (Grupos Protectores en Química Orgánica)", John Wiley & Sons, 1991; JFW McOrnie en "Protective Groups in Organic

Chemistry (Grupos Protectores en Química Orgánica)", Plenum Press, 1973. En el caso de sustituyentes amino protectores en los componentes de la fórmula L-R caracterizados porque R es amino sustituido, se recomienda usar un grupo alcoxycarbonilo protector, en donde la función amino está presente como un grupo alcoxycarbonilamino (de preferencia t.butoxycarbonilamino) durante los pasos de síntesis, hasta la desprotección de condiciones ácidas en un solvente seco.

El compuesto preparado de este modo se puede recuperar de la mezcla de reacción por mecanismos convencionales. Por ejemplo, el compuesto puede recuperarse separando por destilación el solvente de la mezcla de reacción, o si fuera necesario después de separar por destilación el solvente de la mezcla de reacción, verter el residuo en agua; con posterior extracción con un solvente miscible en agua y separando el solvente por destilación del extracto. Adicionalmente, si se deseara, el producto puede purificarse además por varias técnicas conocidas, como recristalización, reprecipitación o las distintas técnicas de cromatografía, en particular cromatografía en columna o cromatografía en capa fina preparatoria.

Compuestos Noveles

Ciertos compuestos de la fórmula general II y los intermedios protegidos en los métodos para su preparación, y sus sales, son nuevos *per se*, y estos compuestos noveles constituyen otro aspecto de la presente invención.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se contempla compuestos de la fórmula general II, caracterizados porque el grupo R se

selecciona de alquilcarbonilo; o alcóxicarbonilo; caracterizado porque cualquier grupo alquilo es opcionalmente sustituido con arilo, amino, alcóxicarbonilamino, mono-alquil-amino, di-alquil-amino, N-alquil,N-alcóxicarbonil-amino, o un residuo de ácido carboxílico (-COOH), o cualquier combinación de éstos; disponiéndose que:

R no es acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C3 sea α y de C25 sea S;

R no es etóxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 es S(β) y la de C25 es R;

R no es succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C3 es S(β) y C25 es S o la estereoquímica de C3 es R(α) o S(β) y la de C25 es R; y

R no es propionilo, butirilo, valerilo, isovalerilo, caproilo, isocaproilo, dietilacetilo, octanoilo, decanoilo, laurilo, miristilo, palmitilo, estearilo, benzoilo, fenilacetilo, fenilpropionato, cinnamato, p-nitrobenzoato, 3,5-dinitrobenzoato, p-clorobenzoato, 2,4-diclorobenzoilo, p-bromobenzoilo, m-bromobenzoilo, p-metoxibenzoilo, bencenosulfonilo, p-toluenosulfonilo, ciclopentilpropinilo, furoilo o ftalilo cuando la estereoquímica de C25 es R y la estereoquímica de C3 es S(β); (incluyendo, con sujeción a las condiciones, todos los estereoisómeros y mezclas racémicas de las mismas) y sales de los mismos.

Puede mencionarse particularmente como nóveles los compuestos de la fórmula II caracterizados porque R es alguno de los grupos antes mencionados excepto acetilo.

Las sales nóveles de los compuestos de la fórmula general II,

incluyendo sales n6veles de compuestos de la f6rmula general II que no son farmac6uticamente aceptables, pueden usarse como intermedios en m6todos para la preparaci6n de los compuestos de la f6rmula general II y sus sales farmac6uticamente aceptables.

Discusi6n acerca de la Base de la Actividad

Sin querer limitarnos a la teor6a, se considera que los compuestos antes definidos tienen la capacidad de regular a los receptores. Por ejemplo, se ha encontrado que algunos de estos compuestos previenen o revierten la p6rdida de receptores muscar6nicos o receptores de dopamina en el cerebro. Se considera que los compuestos funcionan rectificando una deficiencia en el n6mero o funci6n de receptores o el recambio en el animal que se est6 tratando.

Una hip6tesis es que los compuestos est6n incrementando la s6ntesis o liberaci6n, o est6n reduciendo la velocidad de degradaci6n de factores neurotr6picos como factor de crecimiento derivado del cerebro y/o factor de crecimiento nervioso. Estos efectos en los factores de crecimiento pueden deberse a un efecto en el compuesto en un receptor citos6lico o nuclear, o el enlace de un compuesto a una regi6n de promotores con un efecto consecuente directamente en la velocidad de la producci6n de ARNm para el factor de crecimiento, o como una consecuencia de aumentar la producci6n de otro factor importante.

El aumento de la expresi6n y/o procesamiento anormal de la prote6na precursora amiloide (APP) est6 asociado con la formaci6n de placas amiloides y dep6sitos amiloides cerebrovasculares que son los signos principales morfol6gicos de la enfermedad de Alzheimer. De particular

interés son los procesos que regulan la segmentación proteolítica de APP en fragmentos amiloidogénicos y nonamiloidogénicos. La segmentación de APP por la enzima α -secretasa dentro de la secuencia β -amiloide de la proteína genera la formación de un fragmento de terminal C no amiloidogénico y el fragmento α de APPs soluble; este último fragmento ha demostrado que tiene actividad neurotrópica y neuroprotectora así como que mejora la memoria en ratones cuando se les inyecta por vía intracerebro-ventricular (ICV). En contraste, el procesamiento de APP por la β -secretasa expone al terminal N de β -amiloide que es liberado por segmentación de γ -secretasa en el terminal C variable. Se ha demostrado que los péptidos β -amiloides que contienen 39-43 aminoácidos son neurotóxicos y se depositan en placas que interfieren con conexiones entre las neuronas.

Varios estudios han mostrado que la estimulación de receptores muscarínicos produce un aumento de la actividad de la α -secretasa. En consecuencia, aumenta el procesamiento de APP a APPs α con sus efectos neuroprotectores. En forma paralela, el procesamiento de APP por β - y α -secretasa disminuye, y hay una consiguiente reducción de β -amiloide. Otros transmisores como factor de crecimiento nervioso (NGF) y factor neurotrópico derivado del cerebro (BDNF) así como bradicidina y vasopresina pueden tener efectos similares en el aumento de la proporción de APP procesada a APPs α . Puede haber varios factores involucrados en los efectos de NGF que pueden incluir el enlace del factor al receptor de tirosincinasa (TrkA) y la estimulación de fosfolipasa C γ con subsiguiente fosfoliración y activación de proteincinasa C (PKC) y aumento de la

actividad relativa de la α -secretasa.

Los compuestos de acuerdo con la presente invención que revierten la pérdida del número receptores muscarínicos y/o aumentan el mismo tendrán utilidad particular. En realidad, los beneficios pueden verse en tres partes como se indica a continuación:

1. Un aumento del número de receptores muscarínicos que conlleva un aumento de la transmisión sináptica; la reversión de la pérdida de receptores nicotínicos y el aumento del mismo, que se encuentran corriente arriba de la hendidura sináptica, producirá un aumento de la liberación de la acetilcolina o una reversión de la pérdida de la misma en la hendidura sináptica, incrementando de este modo la activación de receptores muscarínicos y amplificando el efecto general.

2. De manera secundaria al aumento del número de receptores con un aumento consecuencial de la actividad de la α -secretasa que genera:

2.1 Una reducción de la producción de β -amiloide y una reducción consecuente de la formación de placa y pérdida neuronal;

2.2 Un aumento de APPs α y una mejora consecuente de la función cerebral como se atestigua por una mejora en la memoria a corto y largo plazo.

Breve Descripción de los Dibujos

A fin de ilustrar mejor la invención a manera de ejemplo no limitante, ahora haremos referencia a los dibujos adjuntos y los Ejemplos que siguen.

En los dibujos:

La Figura 1 ilustra un modo de acción hipotético para los

compuestos empleados en los métodos de la presente invención.

La Figura 2 muestra los efectos de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina en la capacidad de aprendizaje y la memoria de ratas viejas.

La Figura 3 muestra los efectos de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina en el número de receptores muscarínicos.

La Figura 4 muestra los efectos de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina en la neurodegeneración inducida por glutamato en las neuronas corticales primarias de ratas.

La Figura 5 muestra el efecto de acetato de epiesmilagenina sobre la densidad de adrenoceptores de $m3$ y $\beta2$ en el día 5 en una línea celular de CHO- $\beta2/m3$ cotransfectada.

Descripción Detallada de los Dibujos y Ejemplos

Refiriéndonos a la Figura 1 de los dibujos, una representación diagramática de la función de los compuestos de la invención como se muestra. Se considera que los compuestos actúan principalmente en el núcleo celular; sin embargo, la invención no está limitada a ningún modo de acción particular. El aumento observado en el número de receptores como consecuencia a la administración de un agente activo se interpreta como que genera al aumento de la expresión de proteína de receptores muscarínicos (y/o nicotínicos y/o de dopamina). El vínculo posible ente las secretasas y la formación de proteína β -amiloide (que se ha tratado antes) se indica en el dibujo.

Las Figuras 2-5 se describirán en detalle más adelante, en relación

con lo que se trata en los ejemplos.

Se ha evaluado catilato de epismilagenina, acetato de epismilagenina, catilato de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina, succinato de episarsasapogenina, etil- succinato de episarsasapogenina (comparación), sarsa-sapogenina, episarsasapogenina, esmilagenina y epismilagenina respecto de la actividad en varios ensayos *in vitro* e *in vivo*. Los ensayos/experimentos que se consideraron de importancia clave para determinar la posible actividad en la modulación del número de receptores fueron los siguientes:

Ensayo 1: Ensayo basado en las células

Se transfectaron células de ovario de cuyo chino (CHO) con un vector que codifica un receptor muscarínico y/o beta adreno-receptor. La línea celular usada por la mayoría de los experimentos fue una línea celular que expresa un receptor muscarínico.

Ensayo 2: Modelo de enfermedad de Alzheimer

Modelo *in vivo* de la enfermedad de Alzheimer en el que se inyecta amiloide beta y ácido iboténico en el cerebro de la rata.

Ensayo 3: Prueba de aprendizaje y memoria

Se usó un laberinto en forma de Y para evaluar el aprendizaje y la memoria en ratas expuestas a los compuestos de prueba. Luego, las ratas se sacrificaron y la densidad de los receptores muscarínicos en el cerebro se evaluó por ensayo de enlace competitivo de sitio dual, para relacionar el rendimiento en el laberinto en forma de Y, densidad de los receptores y actividad de los agentes activos.

Ensayo 4: Neuroprotección de neuronas cultivadas

Una prueba *in vitro* de la capacidad de los compuestos de prueba para proteger las neuronas contra el daño en un ambiente hostil para las neuronas.

Métodos y Resultados

Los métodos y resultados de estos experimentos ahora se describen en los siguientes Ejemplos, que también proporcionan ejemplos de métodos de síntesis.

EJEMPLO 1

Ensayo basado en células

Se investigaron los efectos de catilato de epismilagenina, catilato de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina succinato de episarsasapogenina, acetato de epismilageina y sarsa-sapogenina en la expresión de receptores m en células ovario de cuyo chino transfectadas con vector para los receptores m. Diversos receptores se evaluaron usando [³H]NMS que se enlazaba y restando el enlace no específico. Los compuestos se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO), DMSO se usó como control.

Métodos:

Células de ovario de cuyo chino (CHO) que expresaban altos niveles de receptor muscarínico ($\sim 2,2 \text{ pmol mg proteína}^{-1}$) se colocaron en una placa de 24 cavidades, un día antes de empezar con el experimento. El medio de cultivo se reemplazó con un vehículo que contenía un medio (DMSO) o los compuestos. Las células se incubaron durante 2/3 días, luego, después de un cambio de medio, se incubaron durante otros 2/3 días. Las células se incubaron con una concentración de saturación de N-metil-

escopolamina marcada, ($[^3\text{H}]\text{NMS}$). Las células se lavaron con solución salina helada amortiguada con fosfato (PBS) (3x) y se determinó $[^3\text{H}]\text{NMS}$ ligado, solubilizando los receptores con amortiguador RIPA con posterior recuento por centelleo líquido.

Los resultados que se muestran en la Figura 5 usaron una línea celular cotransfectada de CHO para expresar adrenoceptores β_2 y receptores muscarínicos m3. Para medir la densidad de β_2 y m3, se usaron $[^3\text{H}]\text{NMS}$ así como $[^3\text{H}]\text{CGP}$.

Resultados:

A continuación se ilustran en la Tabla 1 y en la Figura 5 de los dibujos. Durante el período de cultivo, el tratamiento con catilato de epismilagenina, catilato de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina, succinato de episarsasapogenina y sarsasapogenina, independientemente, previene la disminución del número de receptores muscarínicos. La coincubación de la línea celular notransfectada con acetato de epismilagenina (Figura 5) no alteró de modo significativo la densidad de los receptores m3, mientras que la disminución de adrenoceptores β_2 fue prevenida significativamente por el acetato de epismilagenina.

Tabla 1

Compuesto	Concentración [microMolar]	Actividad
Catilato de epismilagenina	10	++
Catilato de sarsasapogenina	10	++
Catilato de episarsasapogenina	10	++
Succinato de episarsasapogenina	10	++
Sarsasapogenina	10	++

De este modo, los experimentos indican que el catilato de

epismilagenina, catilato de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina, succinato de episarsasapogenina, acetato de epismilagenina y sarsasapogenina, fueron capaces de aumentar el número de receptores muscarínicos o adrenoceptores expresado en las células de ovario de cuyo chino cultivadas *in vitro*. Los compuestos de la presente invención actúan para normalizar el número de receptores, es decir, tienden a evitar que el número de receptores disminuya con el tiempo y también tienden a restaurar el número de receptores a niveles normales cuando se administra a células en las que el nivel de receptores ha disminuido.

EJEMPLO 2

Modelo de enfermedad de Alzheimer

Se usó un modelo de la enfermedad de Alzheimer *in vivo* en el cual se inyectó amiloide beta y ácido iboténico en el cerebro de la rata, lo cual conlleva a una pérdida de receptores en el cerebro y trastorno cognitivo. Los estudios previos mostraron que la inyección local de amiloide β en el *nucleus basalis* del cerebro de la rata causó una hipofunción colinérgica y trastorno conductual de hasta dos meses después de una cirugía (Giovannelli y otros, 1995; Neuroscience, 66, 781-792.). Además de la coinyección de amiloide β con una pequeña cantidad de ácido iboténico en el hipocampo de rata sinérgicamente produce pérdida neuronal con infiltración de células gliales no sólo adyacentes sino también distantes respecto del sitio de la inyección (Morimoto y otros, 1998; Neuroscience, 84, 479-487).

Métodos:

Nuestros estudios usaron el método de Morimoto (Morimoto y otros,

1998; Neuroscience, 84, 479-487) con algunas modificaciones (inyección unilateral en lugar de bilateral). Se dividieron al azar en distintos grupos ratas Sprague Dawley de tres meses de edad. La inyección de amiloide β_{1-40} y ácido iboténico (ambos de Sigma) se aplicó por medio de un instrumento estereotáxico (Stoelting Co.), y las coordenadas fueron AP = -0,5mm (derecho a la línea media), L= -2,8mm (hacia atrás de bregma), H= -7,0 mm (ventral a dura). La dosis para cada rata fue amiloide β_{1-40} (4 μ g) y ácido iboténico (1 μ g) en 1 μ l de solución salina. La inyección se completó en 20 minutos, y la aguja se retiró 10 minutos después. Luego se suturó la piel.

Los 8 grupos fueron:

Al control operado se inyectó una solución salina normal (control)

Modelo (el control se inyectó con amiloide β + ácido iboténico)

Modelo + catilato de episarsasapogenina (18 mg/kg/día)*

Modelo + catilato de Sarsasapogenina (18 mg/kg/día)*

Modelo + etilsuccinato de Episarsasapogenina (18 mg/kg/día)

(comparación)

Modelo + Episarsasapogenina (18 mg/kg/día)*

Modelo + Epismilagenina (18 mg/kg/día)*

Modelo + Diosgenina (es decir, control negativo, 18 mg/kg/día)

* Compuestos de acuerdo con la presente invención

Administración de fármacos

Se administró catilato de episarsasapogenina, catilato de sarsasapogenina, etilsuccinato de episarsasapogenina (compuesto de comparación), episarsasapogenina, epismilagenina y diosgenina (todos en

dosis de 18 mg/kg/día) a animales, en forma de suspensiones estables en CMC-Na (0,5%) una vez al día a través de un tubo gástrico. El grupo de control y de modelo de Alzheimer recibieron el mismo volumen de CMC-Na (0,5%) una vez al día. Los fármacos y vehículos se administraron durante un período de dos meses, empezando 20 días antes de la operación.

Medición de la densidad de los receptores muscarínicos

Las muestras de cerebro se homogenizaron y centrifugaron, y la pella de la centrifugación a 27 000 x g se volvió a homogenizar y se usó para medición. La concentración de ^3H -QNB se seleccionó en el rango de saturación. Luego de incubación y separación, la porción unida se midió con un contador de centelleo líquido.

Prueba de paso por paso

El efecto de los compuestos de prueba en la memoria se evaluó usando la prueba de paso por paso. Una caja de 60 x 15 x 15 cm se dividió en dos compartimentos del mismo tamaño, un compartimento oscuro con base de varillas de cobre, que se cargó eléctricamente (40 v ca) cuando se usa, mientras que el otro era un compartimento con luz pero no cargado eléctricamente. Entre los dos compartimentos hay una abertura (orificio) para que la rata pase por ésta. El experimento se realiza para cada rata en dos días consecutivos. El primer día es para entrenamiento; cuando la rata se adapta en la caja durante los primeros 3 minutos, colóquela en el compartimento con luz, con su lomo hacia el orificio, y las varillas de cobre del compartimento oscuro se carga durante 5 minutos. El segundo día es para evaluación, cuando registran el número de cruces en 5 minutos. La mejora de la memoria se señala con una reducción en el número de cruces.

Resultados

La densidad de los receptores muscarínicos en los cerebros de modelo de Alzheimer fue significativamente menor que la de control. El catilato de episarsasapogenina, catilato de sarsasapogenina episarsasapogenina y la epismilagenina produjeron una elevación importante de la densidad de los receptores muscarínicos del cerebro, mientras que la diosgenina y el etilsuccinato de episarsasapogenina no modificaron de manera significativa la densidad de los receptores muscarínicos. Así, los experimentos indican que los compuestos de la presente invención actúan para normalizar el número de receptores, es decir, tienden a restaurar el número de receptores a niveles normales cuando se administran a animales en los cuales el nivel de receptores ha disminuido.

El número de respuestas incorrectas (número de errores) en 5 minutos fue significativamente mayor en el grupo de modelo de Alzheimer que en el grupo control, lo cual indica un trastorno de la memoria (véase Tabla 2 que se incluye más adelante). La epismilagenina, catilato de episarsasapogenina, episarsasapogenina, catilato de sarsasapogenina independientemente, disminuyeron el número de respuestas incorrectas, mientras que la diosgenina ni etilsuccinato de episarsasapogenina fueron eficaces para reducir el número de respuestas incorrectas.

Tabla 2

Grupo	Densidad de receptores muscarínicos	Prueba paso por paso
	(fmol/mg/proteína)	No. de errores
Control (n = 10)	859±101	0,60±0,70
Modelo (n = 10)	713±48	4,00±2,40

Modelo + catilato de episarsasapogenina (n=10)	877±89*	1,36±0,92*
Modelo + catilato de sarsasapogenina (n=11)	916±158*	1,36±1,03*
Modelo + etilsuccinato de episarsasapogenina (n=11)	774±79	3,73±1,35
Episarsasapogenina (n=10)	869±104*	1,50±1,18*
Epismilagenina (n=11)	877±90*	1,73±0,91
Modelo + Diosgenina (n=8)	770±68	3,75±1,49

Análisis estadísticos usando la prueba t de Student no emparejada. * denota $p < 0,05$

EJEMPLO 3

Prueba de aprendizaje y memoria

Se dividieron al azar ratas no muy jóvenes Sprague-Dawley en 4 grupos, uno de control y grupos para tratarlas durante 3 meses con sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina o esmilagenina ($18 \text{ mg kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$, $n=10$). Un grupo control ($n=14$) de ratas jóvenes no tratadas también se incluyó en el estudio. La dosis diaria de fármaco se mezcló en una cantidad mínima de alimento, y se administró todas las mañanas por separado a cada rata.

Un aparato de laberinto en forma de Y se usó para la prueba de aprendizaje y memoria. En el piso de cada brazo del laberinto en forma de Y se encuentra un conjunto de varillas de cobre a las cuales se aplica corriente eléctrica siempre que se necesita, con un voltaje regulable. Cada brazo tiene 45 cm de largo y una lámpara de 15 W en el extremo, la cual se prende cuando se necesita. Después de 3 meses de administración de

fármaco, se entrenó a cada rata durante 7 días consecutivos, de la siguiente manera. Para cada sesión de entrenamiento, la rata se puso en un bazo del laberinto en forma de Y, después de un descanso de dos minutos, se aplicó corriente eléctrica a las varillas de cobre, y la lámpara del brazo en sentido de las agujas del reloj se iluminó para indicar el área de no estimulación. Si la rata entró al brazo, se registró una respuesta correcta, de lo contrario, se registró una respuesta incorrecta. Esta prueba de estimulación-respuesta se repitió 20 veces al día, con una pausa de 5 segundos entre cada dos pruebas consecutivas. El número de respuestas correctas después de veinte pruebas al sétimo día se usó para expresar la capacidad de aprendizaje, (cuanto mayor es el número, mejor es la capacidad de aprendizaje). Luego, las ratas se dejaron descansar durante 30 días, y el procedimiento se repitió una vez más. El número de respuestas correctas de 20 pruebas de las 20 pruebas después del período de 30 días se usó para representar la capacidad de memoria.

Mediciones de la densidad de receptores muscarínicos en el cerebro

Preparación de tejido: Se retiraron los cerebros rápidamente después de la decapitación, se congelaron en hielo seco y se transfirieron a un congelador. Los cerebros se homogenizaron, y la pella finalmente se suspendió el amortiguador.

Ensayo de enlace de ligando competitivo de sitio dual: se usó ^3H -QNB (bencilato de quinuclidilo) como radioligando que era no selectivo a subtipos de receptores M *in vitro*. Se usó pirenzipina como agente de competencia no radioactivo selectivo. La concentración de proteína se determinó por el método micro-Lowry.

Los resultados se muestran en las Figuras 2 y 3 de los dibujos. Los experimentos con el laberinto en forma de Y revelaron que la capacidad de aprendizaje así como la memoria se ven afectadas en las ratas viejas. La sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina restauraron la capacidad de aprendizaje y memoria luego de la administración en ratas viejas. La densidad de los receptores muscarínicos se redujo notablemente en ratas viejas. La sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina restauraron de manera significativa el número de receptores muscarínicos.

Conclusiones

La sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina restauran significativamente la densidad de los receptores muscarínicos en el cerebro de ratas viejas como cuando eran jóvenes. La restauración de la densidad de receptores muscarínicos en el cerebro de ratas viejas inducida por sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina está asociada con un incremento de la capacidad de aprendizaje y memoria.

EJEMPLO 4

Efecto neuroprotector de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina

El objetivo de este estudio fue analizar los efectos de la sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina y esmilagenina en la supervivencia de los cultivos corticales primarios de ratas tratadas con glutamato, del cual se sabe que induce la neurodegeneración.

Cultivos primarios de neuronas corticales

Las neuronas corticales de ratas se cultivaron durante 10 días; el día

10 el medio se cambió a un medio definido libre de suero. El día 12, 24 horas antes de la exposición a glutamato, los cultivos se lavaron y el medio se reemplazó con un medio fresco que contenía control positivo (β -oestradiol), compuestos de prueba (sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina o esmilagenina) o control de vehículo (DMSO, 0,25%).

El día 13, los cultivos se expusieron a glutamato.

Después del período de incubación, los cultivos se lavaron con medio fresco y se colocaron en éste, se complementaron con compuestos relevantes o vehículo para evaluar sus efectos protectores, 24 horas después de la exposición a glutamato.

La supervivencia de células neuronales se evaluó midiendo la actividad de lactato deshidrogenasa (LDH) liberada en el medio 24 horas después del tratamiento con el compuesto de prueba o la exposición a glutamato + el compuesto de prueba, usando el kit no radioactivo CytoTox 96 y cuantificado midiendo la absorbancia de la longitud de onda a 450 nm.

Resultados

Luego del tratamiento de los cultivos corticales primarios de rata con glutamato, hubo una degeneración significativa de las neuronas corticales, 24 horas después del tratamiento, la cual se demostró por un aumento de la liberación de lactato deshidrogenasa en el medio de cultivo.

En los cultivos corticales primarios tratados previamente con sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina o esmilagenina durante 24 horas, también hubo una reducción importante en la neurodegeneración inducida por glutamato (Figura 4).

Conclusiones

La sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina o esmilagenina mostraron efectos neuroprotectores importantes contra la neurodegeneración inducida por glutamato en neuronas corticales primarias de ratas *in vitro*.

EJEMPLO 5

Síntesis de catilato de Sarsapogenina (3-Etoxicarbonil 5 β , 20 α , 22 α , 25S-espirostan-3- β ol)

Se añadió cloroformato de etilo (1,40 g, 12,9 mmol) por goteo a una solución en agitación de sarsasapogenina (2.08 g, 5.0 mmol) en diclorometano seco (20 ml) y piridina seca (1.02 g, 12.9 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y luego se dividió entre agua (30 ml) y diclorometano. La capa acuosa se extrajo dos veces con diclorometano, las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y luego se secaron sobre MgSO₄. El solvente se evaporó al vacío para producir un sólido blancuzco (2.6 g). Este material se sometió a cromatografía sobre sílice usando elución con acetato-hexano de etilo (1:9) seguido por recristalización a partir de acetona (dos veces) para producir catilato de sarsasapogenina como cristales blancos (0.72 g, 29%): p.f. 133-135°C; m/z 488 (M⁺ para C₃₀H₄₈O₅); ¹H NMR (270 MHz, CDCl₃) δ 0.76 (3H, s, 18-CH₃), 0.98 (3H, s, 19-DH₃), 0.99 (3H, d, J= 6.4 Hz, 21-CH₃), 1.08 (3H, d, J= 7.0 Hz, 27-CH₃), 1.09-2.10 (27H, m complejo, H alifático) de traslape sobre 1.31 (3H, t, J = 7 Hz, CO₂-C-CH₃), 3.30 (1h, amplio, 26-OCHH), 3.95 (1H; amplio, J=2.7, 10.9 Hz, 26-OCHH), 4.18 (2H, q, J=7 Hz, CO₂CH₂), 4.40 (1H, amplio, J=8.8, 7.2 Hz, 16-OCH), 4.95 (1H, pico amplio, H-3) ppm; ¹³C NMR (67 MHz, CDCl₃) δ 14.3 (C-21, C-C-O₂C),

16.1, 16.5, 20.9, 23.7, 25.0, 25.8, 26.0, 26.3, 26.4, 27.1, 30.5, 30.6, 31.7, 35.0, 35.3, 37.1, 40.0, 40.3, 40.7, 42.1, 56.4 (C-14), 62.1 (C-17), 63.5 (C-0₂), 65.1 (C-26, 74.8 (C-3), 81.0 (C-16), 109.7 (C-22), 154.8 (carbonilo) ppm; R_f0.7 (sílice, acetato-hexano de etilo, 1:4).

EJEMPLO 6

Síntesis de catilato de Episarsasapogenina (3-Etoxicarbonilo 5 β ,20 α ,22 α ,25S-espirostan-3 α -ol)

Se añadió cuidadosamente una solución de litio tri-terbutoxialuminohidruro en tetrahydrofurano (1M, 150 ml, 0.15 mol) (durante 20 minutos) a una solución en agitación de sarsasapogenina (producida por el método de Lajis y otros, Esteroides, 1993, 58, 387-389) (41.4 g, 0.10 mol) en tetrahydrofurano seco (400 ml) a 20 \pm 5°C bajo nitrógeno seco. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante dos horas. La solución resultante se amortiguó cuidadosamente con una solución de sulfato de sodio saturado acuoso (50 ml), las sales orgánicas se retiraron por filtración a través de una almohadilla Hyflo y se lavó con THF. Los solventes se retiraron al vacío y el residuo (alrededor de 40 g) se dividió entre acetato de etilo (500 ml) y 1 M de ácido clorhídrico (200 ml). En la interfase de los dos solventes un material blanco permaneció sin disolverse el cual se retiró por filtración, se lavó con agua (2 veces x 100 ml) y se secó al vacío. El sólido se convirtió en pasta aguada dos veces con acetato de etilo (2 veces x 250 ml, 5 minutos cada una), los solventes se decantaron y el material insoluble se secó al vacío en horno. Esto proporcionó 23.1 g de episarsasapogenina cruda que se volvió a cristalizar a partir de acetona (1500 ml) para producir episarsasapogenina en forma de cristales blancos

(12.6 g, 30%): pf 214-216°C; m/z 416 (M^+ para $C_{27}H_{44}O_3$) 1H NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 0.75 (3H, s, 18 CH_3), 0.94 (3Hs s, 19- CH_3), 0.99 (3H, d, $J=6.6$ Hz, 21- CH_3), 1.08 (3H, d, $J=7.3$ Hz, 27- CH_3), 1.1-2.1 (27H, m complejo, alifático H), 3.30 (1H, amplio, $J=11.0$ Hz, 26-OCHH), 3.55-3.72 (1H, 7 línea m, $J = 11.0, 5.5$ Hz, H-3), 3.95 (1H, dd, $J=11.0, 26$ Hz, 26-OCHH), 4.40 (1H, dd, $J=8.0, 5.5$ Hz, 16-OCH) ppm; ^{13}C NMR (67 MHz, $CDCl_3$) δ 14.3 (C-21, 16.1 (C-27), 16.5 (C-18), 20.6 (C-11, 23.4 (C-19), 25.8 (C-24), 26.0 (C-23), 26.7 (C-6), 27.1 (C-25, C-7), 30.5 (C-2), 31.8 (C-15), 34.7 (C-10), 35.4 (C-1), 35.5 (C-S), 36.5 (C-4), 40.3 (C-12), 40.5 (C-9), 40.6 (C-13), 42.0 (C-5), 42.1 (C-20), 56.4 (C-14), 62.1 (C-17), 65.1 (C-26), 71.8 (C-3), 81.0 (C-16), 109.7 (C-22) ppm; R_f 0.35 (sílice, acetato-hexano de etilo 1:4). Un segundo cultivo se obtuvo seguidamente (5.2 g). Los extractos de acetato de etilo del experimento anterior se concentraron a alrededor de 1/5 del volumen para producir un cultivo posterior de episarsasapogenina (3.6 g).

Se agregó el cloroformato de etilo (14.0 g, 0.13 mol) por goteo a una solución en agitación de episarsasapogenina (10.0 g, 0.024 mol) en diclorometano seco (200 ml) y piridina seca (10.2 g, 0.13 mol). La mezcla rosada se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y luego se dividió entre agua (30 ml) y diclorometano. La capa acuosa se extrajo dos veces con diclorometano, las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y luego se secaron sobre $MgSO_4$. El solvente se evaporó al vacío para producir un sólido blancuzco (13.4). La recristalización a partir de acetona (alrededor de 300 ml) produjo catilato de episarsasapogenina en forma de cristales blancos (8.9 g, 76%); p.f. 154-156°C; m/z 488 (M^+ para $C_{30}H_{48}O_5$)

^1H NMR (270 MHz, CDCl_3) δ 0.75 (3H, s, 18 CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 0.99 (3H, d, $J=6.6$ Hz, 21- CH_3), 1.08 (3H, d, $J=7.0$ Hz, 27- CH_3), 1.1-2.1 (27H, m complejo, H alifático) en traslape con 1.30 (3H, T, $J = 7.1$ CO_2 C- CH_3), 3.30 (1h, J amplio = 11.0 Hz, 26-OCHH), 3.95 (1H, dd, $J= 11.0$, 2.6 Hz, 26-OCHH), 4.18 (2H, q, $J= 7$ Hz, CO_2CH_2), 4.41 (1H, amplio, $J=8.0$, 6.3 Hz, 16-OCH), 4.51-4.66 (1H, 7 línea m, H-3) ppm; ^{13}C NMR (67 MHz, CDCl_3) δ 14.3 (C-C- O_2C)-14.4 (C-21), 16.1, 16.5, 20.6, 23.3, 25.8, 26.0, 26.5, 26.6, 26.9, 27.1, 31.7, 32.1, 32.8, 34.7, 35.0, 35.4, 40.3, 40.5, 40.6, 41.8, 42.1, 56.4 (C-14), 62.1 (C-17), 63.6 (C- O_2C), 65.1 (C-26), 77.9 (C-3), 81.0 (C-16), 109.7 (C-22), 154.6 (carbonilo) ppm; R_f 0.75 (silica, acetato-hexano de etilo, 1:4).

EJEMPLO 7

Síntesis de succinato de episarsasapogenina (mono-3 α ,5 β ,20 α ,22 α ,25S-succinato de espiroestano)

Se pulverizó episarsasapogenina (8.0 g, 19.2 mmol) y en anhídrido succínico (8.0 g; 80 mmol) con un pistilo y un mortero hasta que se obtuvo una mezcla homogénea de tamaño de partícula pequeña. La mezcla polvorienta se agitó luego y se calentó a 80°C sobre un baño de aceite mientras se añadió piridina seca (0.2 ml). La mezcla se agitó bajo nitrógeno a medida que la temperatura del baño se elevó a 120 \pm 5°C para obtener una “fusión”, y la fusión se mantuvo a esta temperatura durante media hora. Después de enfriarse, el sólido resultante se convirtió en pasta aguada en agua (300 ml), se aciduló con 1M de ácido clorhídrico y la mezcla se trituyó. El sólido teñido de gris se recolectó mediante filtración, se lavó con agua, se secó y se volvió a cristalizar a partir de metanol (ca

400 ml), con filtración caliente a través de carbón descolorante, para producir succinato de episarsasapogenina en forma de cristales blancos (7.46 g, 75%): p.f. 195°C-197°C; m/z 516 (M^+ para $C_{31}H_{45}O_6$); 1H NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 0.76 (3H, s, 18 CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 1.00 (3H, d, $J=6.2$ Hz, 21- CH_3), 1.08 (3H, d, $J=7.0$ Hz, 27- CH_3), 1.2-2.1 (27H, m complejo, H alifático) 2.63 (4H, m, $COCH_2CH_2CO$), 3.31 (1H, amplio, $J=11.0$ Hz, 26-OCHH), 3.96 (1H, dd, $J=11.0, 2.6$ Hz, 26-OCHH), 4.42 (1H, amplio, $J=8.0, 6.4$ Hz, 16-OCH), 4.75 (1H, m, H-3) ppm; ^{13}C NMR (67 MHz, $CDCl_3$) δ 14.3 (C-21), 16.1 (C-27), 16.5 (C-18), 20.6 (C-11), 23.4 (C-19), 25.8, 25.9, 26.6, 27.0, 27.1, 29.1, 29.3, 31.7, (CCO_2), 32.1 (CCO_2), 34.7, 35.1, 35.5, 40.2, 40.6, 40.7, 41.9, 42.2, S6.3 (C-14), 62.1 (C-17), 65.1 (C-26), 74.9 (C-3), 81.0 (C-16), 109.8 (C-22), 171.7 (carbonilo éster), 177.9 (carboxilo) ppm; R_f 0.14 (sílice, acetato-hexano de etilo, 3:7).

EJEMPLO 8

Síntesis de catilato de epismilagenina (3-Etoxicarbonilo $5\beta,20\alpha,22\alpha,25R$ -espirostan- 3α)

Se añadió cloroformato de etilo (1.40 g, 2.9 mmol) por goteo a una solución en agitación de epismilagenina (1.0 g, 2.4 mmol) en diclorometano seco (30 ml) y piridina seca (1.02 g, 12.9 mmol). La mezcla rosada se agitó a temperatura ambiente durante cuatro horas y luego se dividió entre agua (50 ml) y diclorometano. La capa acuosa se extrajo dos veces con diclorometano, las capas orgánicas se lavaron con agua y luego se secaron sobre $MgSO_4$. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un sólido amarillo pálido (1.1 g). La recrystalización a partir de acetona produjo catilato de epiesmilagenina en forma de cristales blancos (0.47 g,

40%); p.f. 176-179°C; m/z 488 (M^+ para $C_{30}H_{48}O_5$); 1H NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 0.75 (3H, s, 18 CH_3), 0.79 (3H, d, $J=6.2$ Hz, 27- CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 0.96 (3H, d, $J=7.3$ Hz, 21- CH_3), 1.0-2.05 (27H, m complejo, H alifático) en traslape con 1.30 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, CO_2-C-CH_3), 3.37 (1H, t, $J=11.0$ Hz, 26- $OCHH$), 3.48 (1H, m, 26- $OCHH$), 4.17 (2H, q, $J=7.3$ Hz, CO_2CH_2), 4.40 (1H, m, 16- OCH), 4.58 (1H, 7 línea m, H-3) ppm; ^{13}C NMR (67 MHz, $CDCl_3$) δ 14.3 (C-C- O_2C), 14.5 (C-21), 16.5 (C-18), 17.2 (C-27), 20.6 (C-11), 23.3 (C-19), 26.5, 26.6, 26.9, 28.8, 30.3, 31.4, 31.8, 32.1, 34.7, 35.0, 35.4, 40.2, 40.5, 40.6, 41.6, 41.8, 56.4 (C-14), 62.2 (C-17), 63.6 (C- O_2C), 66.8 (C-26), 77.9 (C-3), 80.9 (C-16), 109.2 (C-22), 154.6 (carbonilo) ppm; R_f 0.8 (sílice, acetato-hexano de etilo, 1:4).

EJEMPLO 9

Síntesis de Clorhidrato de Glicinato de Episarsasapogenina

N-ter-butoxicarbonilo 5 β ,20 α ,22 α ,25S-espirostan-3 α -il) glicinato
(glicinato de BOC de episarsasapogenin)

Se añadió dicitclohexilcarbodiimida (0.68 g, 3.3 mmol) en porciones sobre 1 mm a una mezcla en agitación de episarsasapogenina (1.0 g, 2.4 mmol), *N-ter-butoxicarbonilglicina* (0.53 g, 3.0 mmol), 4-dimetilaminopiridina (10 mg, 0.1 mmol) y diclorometano seco (20 ml) a 0-5°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, se filtró para retirar la dicitclohexilurea, y luego se dividió entre una solución de carbonato de hidrógeno de sodio (1.5 g. en 20 ml de agua) y diclorometano (15 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con 1N de ácido clorhídrico (15 ml) luego con agua y se secó sobre $MgSO_4$. El solvente se retiró bajo vacío para proporcionar una espuma blancuzca. Este

material se trituró y se agitó en éter (25 ml) durante tres horas. Después de dejarse en reposo durante toda la noche se filtró (para retirar cualquier diciclohexilurea residual) y el filtrado se evaporó para proporcionar un sólido blancuzco (alrededor de 1.1 g). La recristalización a partir de metanol (alrededor de 30 ml) produjo el derivado de glicinato de BOC en forma de microcristales (0.40 g): p.f. 171°C-173°C; m/z 573.5 (M^+ para $C_{34}H_{55}O_6$) δ (270 MHz, $CDCl_3$) 0.76 (3H, s, 18- CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 0.99 (3H, d, $J=6.2$ Hz, 21- CH_3), 1.08 (3H, d, $J=7.0$ Hz, 27- CH_3), 1.1-2.1 (27H, m complejo, H alifático) en traslape con 1.46 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 3.30 (1H, amplio, $J = 11.0$ Hz, 26-OCHH), 3.86 (2H, amplio, $J = 4.8$ Hz, CH_2N), 3.95 (1H, dd, $J=11.0, 2.6$ Hz, 26-OCHH), 4.42 (1H, m, 16-OCH), 4.79 (1h, 7 línea m, H-3), 5.04 (1H, amplio, NH), δ_c (270 MHz, $CDCl_3$) 14.3 (C-21), 16.1 (C-27), 16.5 (C-18), 20.7 (C-11), 23.3 (C-19, 25.8, 26.0, 26.6, 26.9, 27.1, 28.4, 31.8, 32.2, 34.7, 35.0, 35.5, 40.2, 40.6, 40.7, 41.9, 42.2, 42.8, 56.4 (C-14), 62.2 (C-17), 65.2 (C-26), 75.6 (C-3), 79.9 (CH_2N), 81.0 (C-16), 109.7 (C-22), 155.7 (carbonilo de carbamato), 169.8 (carbonilo de éster) R_f 0.4 (silica, acetato-hexano de etilo, 1:8).

5 β ,20 α ,22 α ,25S-espirostan-3 α -clorhidrato de il glicinato) (Clorhidrato de Glicinato de episarsasapogenina clorhidrato)

Un lento flujo firme de cloruro de hidrógeno se pasó a través de una solución en agitación de N-ter-butoxicarbonilo 5 β ,20 α ,22 α ,25S-espirostan-3 α -il glicinato (0.40 g, 0.78 mmol) en acetato-éter de etilo seco (24 ml de 1:8) a 0-5°C con exclusión de humedad. Después de alrededor de 45 minutos la mezcla de la reacción se saturó (el exceso de gas se descargó dentro de una trampa y el suministro de cloruro de hidrógeno se

desconectó. Se continuó con la agitación y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. Los estudios de TLC indicaron que la reacción de desprotección se completó después alrededor de un período de 2 a 3 horas. La suspensión blanca resultante se dejó reposar durante tres horas, y el sólido blanco polvoriento se retiró mediante filtración y se lavó con éter. Este material se secó al aire y luego además se secó en desecador al vacío sobre CaCl_2 a un peso constante para proporcionar 0.24 g de un sólido blanco de flujo libre, p.f. 270°C - 272°C (descomp.) m/z 473 (M^+ para $\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{O}_4$) Sal de HCl $\text{M}=510.2$ δ_{H} (270 MHz, CDCl_3) 0.76 (3H, s, 18 CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 0.99 (3H, d, $\text{J}=6.2$ Hz, 21- CH_3), 1.08 (3H, d, $\text{J}=7.0$ Hz, 27- CH_3), 1.1-2.1 (27H, m complejo, H alifático) en traslape con 1.46 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.30 (1H, amplio $\text{J}=11.0$ Hz, 26-OCHH), 3.86 (2H, amplio, $\text{J}=4.8$ Hz, CH_2N), 3.95 (1H, dd, $\text{J}=11.0, 2.6$ Hz, 26-OCHH), 4.42 (1H, m, 16-OCH), 4.79 (1H, 7 línea m, H-3), 5.04 (1H, amplio, NH), δ_{C} (270 MHz, CDCl_3) 14.3 (C-21), 16.1 (C-27), 16.5 (C-18), 20.7 (C-11), 23.3 (C-19), 25.8, 26.0, 26.6, 26.9, 27.1, 28.4, 31.8, 32.2, 34.7, 35.0, 35.5, 40.2, 40.6, 40.7, 41.9, 42.2, 42.8, 56.4 (C-14), 62.2 (C-17), 65.2 (C-26), 75.6 (C-3), 79.9 (CH_2N), 81.0 (C-16), 109.7 (C-22), 155.7 (carbonilo de carbamato), 169.8 (carbonilo de éster) R_f 0.6 (sílice, diclorometano-metanol-0.88 amoníaco, 9:1:0.1).

EJEMPLO 10

Síntesis de Clorhidrato de Glicinato de Sarsasapogenina

El compuesto del título se realizó mediante una síntesis análoga a la del Ejemplo 9, usando en su lugar sarsasapogenina como material de inicio.

El producto intermedio N-ter-butoxicarbonilo $5\beta,20\alpha,22\alpha,25\text{S}$ -

espirostan-3 β -il glicinato) (Glicinato BOC de sarsasapogenina) se obtuvo en forma de microcristales blancos, m/z 573.5 (M^+ para $C_{24}H_{55}O_6$) R_f 0.45 (sílice, acetato-hexano de etilo, 1:4), y el compuesto del título se obtuvo en forma de sólido microcristalino blanco de flujo libre, p.f. 259-261°C (descompos.) m/z 473 (M^+ para $C_{20}H_{47}O_4$) Sal de HCl $M=510.2$) R_f 0.5 (silica, diclorometano-metanol-0.88 ammoníaco, 12:1:0.1).

EJEMPLO 11

Síntesis de Clorhidrato de Glicinato de Epiesmilagenina

El compuesto del título se sintetizó mediante un método análogo al del Ejemplo 9, usando en su lugar epiesmilagenina como material de inicio.

El producto intermedio N-ter-butoxicarbonil 5 β ,20 α ,22 α ,25S-espirostan-3 α -il glicinato (Glicinato BOC de epiesmilagenina), se obtuvo en forma de microcristales blancos, p.f. 100-103°C m/z 573.5 (M^+ para $C_{34}H_{55}O_6$) δ_H (500 MHz, $CDCl_3$) 0.75 (3H, s, 18 CH_3), 0.79 (3H, d, $J=6.3$ Hz, 27 CH_3), 0.95 (3H, s, 19 CH_3), 0.96 (3H, d, $J=6.9$ Hz, 21- CH_3), 1.0-2.0 (27H, m complejo, H alifático) en traslape con 1.45 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 3.37 (1H, t, $J = 10.9$ Hz, 26-OCHH), 3.47 (1H, m, 26-OCHH), 3.87 (2h, $J= 5.3$ Hz, CH_3N), 4.40 (1H, m, 16-OCH), 4.79 (1H, 7 línea m, H-3), 5.04 (1H, pico amplio, NH), δ_c (270 MHz, $CDCl_3$) 14.7 (C-21), 16.6 (C-18), 17.3 (C-27), 20.8 (C-11), 23.5 (C-19), 26.7, 26.8, 27.1, 28.5, 29.0, 30.5, 31.6, 32.0, 32.3, 34.9, 35.2, 35.6, 40.4, 40.7, 40.8, 41.8, 42.0, 42.9, 56.5 (C-14), 62.4 (C-17), 67.0 (C-26), 75.7 (C-3), 80.1 (CO_2C), 81.1 (C-16), 109.4 (C-22), 155.9 (carbonilo de carbamato), 170.0 (carbonilo de éster) R_f 0.46 (silica, acetato-hexano de etilo 1:4).

El compuesto del título se obtuvo en la forma de un sólido

microcristalino blanco de flujo libre, p.f. 273°C-275°C (descomp.) m/z 473 (M^+ para $C_{29}H_{47}O_4$) Sal de HCl $M=510.2$ δ_H [500 MHz, $(CD_3)_2SO$] 0.71 (3H, s, 18- CH_3), 0.75 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 27- CH_3), 0.91 (3H, d, $J=6.9$ Hz, 21- CH_3), 0.92 (3H, s, 19- CH_3) 1.0-2.0 (27H, m complejo, H alifático), 3.20 (1H; t, $J = 11.1$ Hz, 26.0CHH), 3.41 (1H, m, 26-OCHH), 3.71 (2H, amplio, CH_2N), 4.28 (1H, m, 16-OCH), 4.75 (1H, 7 línea m, H-3), 8.54 (3H, s, NH_3), δ_c [125 MHz, $(CD_3)_2SO$] 14.6 (C-21), 16.1 (C-18), 17.0 (C-27), 20.1 (C-11), 22.9 (C-19), 26.0, 26.2, 26.4, 28.5, 29.7, 30.9, 31.4, 31.6, 34.2, 34.3, 34.9, 41.0, 41.1, 55.5 (C-14), 61.9 (C-17), 65.9 (C-26), 75.4 (C-3), 80.2 (C-16), 108.3 (C-22), 166.9 (carbonilo). R_f 0.5 (silica, diclorometano-metanol 0.88 amoníaco, 12:1:0.1).

EJEMPLO 12

Síntesis de Clorhidrato de Epiesmilagenina L-Alaninato

El compuesto del título se sintetizó mediante un método análogo al del Ejemplo 9, usando en su lugar epiesmilagenina y N-ter-butoxicarbonil-L-alanina como materiales de inicio.

El intermedio, N-ter-butoxicarbonil $5\beta,20\alpha,22\alpha,25R$ -espirostan-3 α -il L-alaninato (Epiesmilagenina BOC L-Alaninato), se obtuvo en forma de microcristales blancos, p.f. 171°C-173°C m/z 587.5 (M^+ para $C_{35}H_{57}O_6$) δ_H (500 MHz, $CDCl_3$) 0.76 (3H, s, 18- CH_3), 0.79 (3H, d, $J=6.4$ Hz, 27- CH_3), 0.95 (3H, s, 19 CH_3), 0.97 (3H, d, $J=7.0$ Hz, 21- CH_3), 1.0-2.03 (27H, m complejo, H alifático) en traslape con 1.37 (3H, d, $J = 7.1$ Hz) y 1.45 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 3.38 (1H, t, $J = 10.9$ Hz, 26-OCHH), 3.47 (1H, m. 26- OCHH), 4.25 (1H, m, CHN), 4.40 (1H, m, 16-OCH), 4.76 (1H, 7 línea m, H-3), 5.06 (1H, d amplio, $J = 5.7$ Hz, NH). δ_c (125 MHz, $CDCl_3$) 14.7 (C-21), 16.6

(C-18), 17.3 (C-27), 19.0 (CH₃-C-N), 20.8 (C-11), 23.5 (C-19), 26.7, 26.8, 27.1, 28.5, 29.0, 30.5, 31.6, 32.0, 32.3, 34.9, 35.2, 35.6, 40.4, 40.7, 40.9, 41.8, 42.0, 49.6, 56.5 (C-14), 62.5 (C-17), 67.0 (C-26), 75.5 (C-3), 79.9 (CO₂C), 81.1 (C-16), 109.4 (C-22), 155.3 (carbonilo de carbamato), 173.1 (carbonilo de éster) R_f 0.53 (silica, acetato-hexano de etilo 1:4).

El compuesto del título se obtuvo en forma de un sólido microcristalino blanco de flujo libre, p.f. 233°C-235°C (descomp.) m/z 487 (M⁺ para C₃₀H₄₉O₄) Sal de HCl M=524.2 δ_H [500 MHz, (CD₃)₂SO] 0.71 (3H, s, 18-CH₃), 0.74 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, 27-CH₃), 0.90 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, 21-CH₃), 0.92 (3H, s, 19-CH₃) 1.0-1.95 (27H, m complejo, H alifático) en traslape con 1.42 (3H; d, *J* = 7.2 Hz, CH₃-C-N), 3.21 (1H, t, *J* = 11.0 Hz, 26-OCHH), 3.41 (1H, m, 26-OCHH), 3.96 (1H, q, *J* = 7.0 Hz, CHN), 4.29 (1H, m, 16-OCH), 4.73 (1H, 7 línea m, H-3), 8.66 (3H, s, NH₃), δ_C [125 MHz, (CD₃)₂SO] 14.5 (C-21), 15.6 (Ala Me), 16.0 (C-18), 17.0 (C-27), 20.1 (C-11), 22.8 (C-19), 25.9, 26.1, 26.4, 28.4, 29.7, 30.9, 31.3, 31.5, 34.2, 34.9, 40.9, 41.0, 47.8, 55.5 (C-14), 61.9 (C-17), 65.8 (C-26), 75.4 (C-3), 80.2 (C-16), 108.2 (C-22), 169.3 (carbonilo). Cuatro señales no detectadas, probablemente ocultas bajo los picos del solvente. R_f 0.56 (silica, diclorometano-metanol 0.88 amoníaco, 12:1:0.1).

EJEMPLO 13

Síntesis de Clorhidrato de Epiesmilagenina L-Valinato

El compuesto del título se sintetizó mediante un método análogo al del Ejemplo 9, usando en su lugar epiesmilagenina y N-*ter*-butoxicarbonil-L-valina como materiales de inicio.

El intermedio N-*ter*-butoxicarbonil 5β,20α,22α,25R-espirostan-3α-il

L-valinato (Epiesmilagenina BOC L-Valinato), se obtuvo en forma de microcristales blancos, p.f. 68°C-71°C m/z 615.5 (M^+ para $C_{37}H_{61}O_6$) δ_H (500 MHz, $CDCl_3$) 0.76 (3H, s, 18- CH_3), 0.79 (3H, d, $J=6.4$ Hz, 27- CH_3), 0.89 (6H, d, $J = 6.9$ Hz, $C(CH_3)_2$), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 0.96 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 21- CH_3), 1.0-2-2 (28H, m complejo, H alifática) en traslape con 1.43, 1.45 (9H, 2 veces s, $C(CH_3)_3$), 3.38 (1H, t, $J = 10.9$ Hz, 26-OCHH), 3.47 (1H, m, 26-OCHH), 4.17 (1H, dd, $J = 9.9$, 4.1 Hz, CHN), 4.40 (1H, m, 16-OCH), 4.79 (1H, 7 línea m, H-3), 5.01 (1H, t amplio, $J = 9.9$ Hz, NH). δ_c (125 MHz, $CDCl_3$) 14.7 (C-21), 16.6 (C-18), 17.3 (C-27), 17.7 (Val Me), 19.2 (Val Me), 20.8 (C-11), 23.5 (C-19), 26.7, 26.9, 27.1, 28.5 (t-butilo Me), 29.0, 30.5, 31.6, 32.0, 32.4, 34.9, 35.2, 35.7, 40.4, 40.7, 40.9, 41.8, 42.0, 56.4 (C-14), 58.8 (CHN), 62.5 (C-17), 67.1 (C-26), 75.4 (C-3), 79.8 (CO_2C), 81.1 (C-16), 109.4 (C-22), 155.9 (carbonilo de carbamato), 172.1 (carbonilo de éster) R_f 0.60 (silica, acetato-hexano de etilo 1:4).

El compuesto del título se obtuvo en forma de un sólido microcristalino blanco de flujo libre, p.f. 171-173°C (descomp.) m/z 515.7 (M^+ para $C_{32}H_{49}O_4$) Sal de HCl $M = 552.2$ δ_H [500 MHz, $(CD_3)_2SO$] 0.71 (3H, s, 18- CH_3), 0.74 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, 27- CH_3), 0.90 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 21- CH_3), 0.93 (3H, s, 19- CH_3) 0.95 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, Valina - CH_3), 1.00 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, Valina - CH_3), 1.0-2.0 (27H, m complejo, H alifático), 2.22 (1H, m, CH-C-N), 3.21 (1H, t, $J = 11.0$ Hz, 26-OCHH), 3.41 (1H, m, 26-OCHH), 3.75 (1H, m, CHN), 4.28 (1H, m, 16-OCH), 4.77 (1H, 7 línea m, H-3), 8.6 (3H, pico amplio, NH_3), δ_c [125 MHz, $(CD_3)_2SO$] 14.5 (C-21), 16.0 (C-18), 17.0 (C-27), 17.4 (Val Me), 20.1 (C-11), 22.9 (C-19), 26.1, 26.2, 26.4, 28.4 (t-Bu), 29.2, 29.7, 30.9, 31.3, 31.7, 34.2, 34.9, 41.0, 41.1,

55.5 (C-14), 57.1 (CHN), 61.9 (C-17), 65.8 (C-26), 75.4 (C-3), 80.2 (C-16), 108.3 (C-22), 168.0 (carbonilo). Cuatro señales no detectadas, probablemente ocultas bajo los picos del solvente. R_f 0.64 (sílice, diclorometano-metanol 0.88 amoníaco, 12:1:0.1).

EJEMPLO 14

Síntesis de Clorhidrato de Epiesmilagenina L-Isoleucinato

El compuesto del título se sintetizó mediante un método análogo al del Ejemplo 9, usando en su lugar epiesmilagenina y N-ter-butoxicarbonil-L-isoleucina en forma de materiales de inicio.

El intermedio N-ter-butoxicarbonil $5\beta,20\alpha,22\alpha,25R$ -espirostan-3 α -il L-isoleucinato (Epiesmilagenina BOC L-Isoleucinato), se obtuvo en forma de microcristales blancos, p.f. 67-70°C m/z 629.5 (M^+ para $C_{38}H_{63}O_6$). R_f 0.6 (sílice, acetato-hexano de etilo, 1:4).

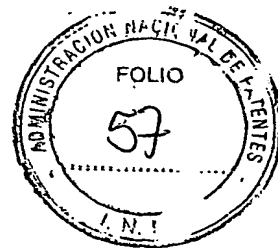
El compuesto del título se obtuvo en la forma de un sólido microcristalino blanco de flujo libre, p.f. 169°C-171°C (descomp.) m/z 529.7 (M^+ para $C_{33}H_{55}NO_4$). Sal de HCl $M = 566.2$. R_f 0.7 (sílice, diclorometano-metanol-0.88 amoníaco, 12:1:0.1).

EJEMPLO 15

Síntesis de Clorhidrato de Epiesmilagenina L-Fenilalaninato

El compuesto del título se sintetizó mediante un método análogo al del Ejemplo 9, usando en su lugar epiesmilagenina y N-ter-butoxicarbonil-L-fenilalanina en forma de materiales de inicio.

El intermedio N-ter-butoxicarbonil $5\beta,20\alpha,22\alpha,25R$ -espirostan-3 α -il L-fenilalaninato (Epiesmilagenina BOC L-Fenilalaninato), se obtuvo en forma de microcristales blancos, p.f. 66-68°C m/z 663.5 (M^+ para



$C_{41}H_{61}NO_6$). R_f 0.6 (sílice, acetato-hexano de etilo, 1:5).

El compuesto del título se obtuvo en la forma de un sólido microcristalino blanco de flujo libre, p.f. 254-256°C (descomp.) m/z 563.5 (M^+ para $C_{36}H_{53}NO_4$). Sal de HCl $M = 600.2$. R_f 0.6 (sílice, diclorometano-metanol-0.88 amoniaco, 12:1:0.1).

EJEMPLO 16

Síntesis de Clorhidrato de Epiesmilagenina L-Metioninato

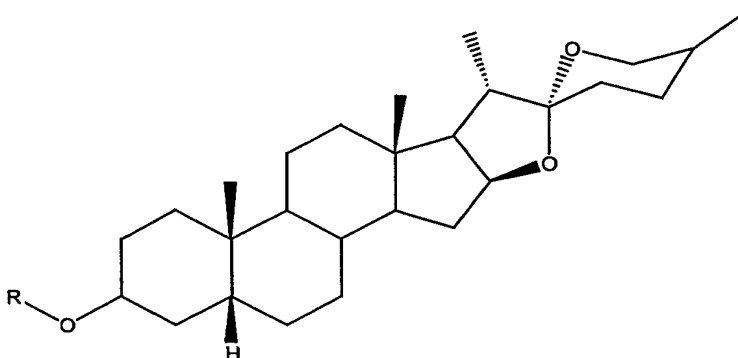
El compuesto del título se sintetizó mediante un método análogo al del Ejemplo 9, usando en su lugar epiesmilagenina y N-ter-butoxicarbonil-L-metionina en forma de materiales de inicio.

El intermedio N-ter-butoxicarbonil $5\beta,20\alpha,22\alpha,25R$ -espirostan-3 α -il L-metioninato (Epiesmilagenina BOC L-Metioninato), se obtuvo en forma de microcristales blancos, p.f. 76-79°C m/z 647.9 (M^+ para $C_{37}H_{61}NO_6S$). R_f 0.5 (sílice, acetato-hexano de etilo, 1:5).

El compuesto del título se obtuvo en la forma de un sólido microcristalino blanco de flujo libre, p.f. 173°C-176°C (descomp.) m/z 547.8 (M^+ para $C_{32}H_{53}NO_4S$). Sal de HCl $M = 584.3$. R_f 0.5 (sílice, diclorometano-metanol-0.88 amoniaco, 12:1:0.1).

REIVINDICACIONES

1. Uso de compuestos de la fórmula general II:



caracterizado porque el grupo R se selecciona de hidrógeno; alquylcarbonilo; o alcoxycarbonilo; donde cualquier grupo alquilo es opcionalmente sustituido con arilo, amino, mono- o di-alquyl-amino, un residuo de ácido carboxílico $(-\text{COOH})_2$ o cualquier combinación del mismo.

incluyendo todos los estereoisómeros y mezclas racémicas de los mismos, y sus sales farmacéuticamente aceptables,

en el tratamiento o prevención de, o en la preparación de las composiciones para el tratamiento o la prevención de (i) neurodegeneración no-cognitiva, (ii) degeneración neuromuscular no-cognitiva, o (iii) pérdida del receptor en ausencia de deficiencia cognitiva, neural y neuromuscular, en animales humanos y no humanos sufriendo de la deficiencia o susceptibles a ella.

2. Un uso de acuerdo a la Reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de la fórmula II se selecciona a partir de:

Sarsasapogenina

catilato de sarsasapogenina

acetato de sarsasapogenina

succinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables
de las mismas

episarsasapogenina

catilato de episarsasapogenina

acetato de episarsasapogenina

succinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo

esmilagenina

catilato de esmilagenina

acetato de esmilagenina

succinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del
mismo

epiesmilagenina

catilato de epiesmilagenina

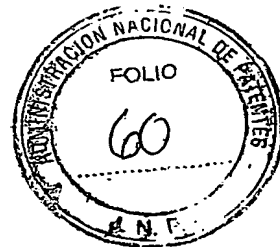
acetato de epiesmilagenina

succinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables
del mismo

3. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto de la fórmula II se selecciona a partir de:

glicinato de sarsapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del
mismo

glicinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente



aceptables del mismo

glicinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

glicinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

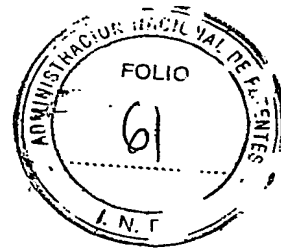
valinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo



fenilalaninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

isoleucinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

isoleucinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

isoleucinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

isoleucinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

metioninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

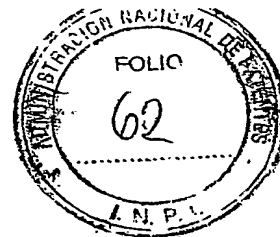
metioninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

metioninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

metioninato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

4. Uso de los compuestos de la fórmula general II como se define en la reivindicación 1,

siempre y cuando: R no sea hidrógeno o acetyl no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C₃ sea α y de C₂₅ sea S; R no es etoxycarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la



estereoquímica de C_3 es S (β) y de C_{25} es R; y R no es succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C_3 es S (β) y de C_{25} es S o la estereoquímica de C_3 es R (α) y de C_{25} es R;

incluyendo, sujeto a las cláusulas anteriormente mencionadas, todos los estereoisómeros y mezclas racémicas de los mismos, y sus sales farmacéuticamente aceptables,

en el tratamiento o prevención de, o en la preparación de las composiciones para el tratamiento o la prevención de la disfunción cognitiva en animales humanos y no humanos que sufren de dicho trastorno o que sean susceptibles al mismo.

5. El uso de acuerdo a la Reivindicación 4, caracterizado porque el compuesto de la fórmula II se selecciona a partir de:

catilato de sarsasapogenina

episarsasapogenina

catilato de episarsasapogenina

acetato de episarsasapogenina

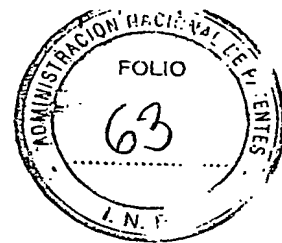
succinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

catilato de esmilagenina

glicinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

glicinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

glicinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo



glicinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

alaninato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

valinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

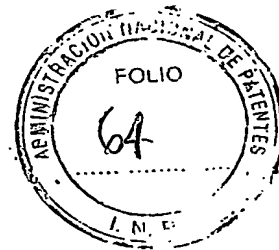
valinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

fenilalaninato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente



aceptables del mismo

isoleucinato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo

isoleucinato de episarsapogenina y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo

isoleucinato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables
del mismo

isoleucinato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo

metioninato de sarsasapogenina y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo

metioninato de episarsasapogenina y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo

metioninato de esmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables
del mismo

metioninato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente
aceptables del mismo

6. Usar de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 1 a la 5, caracterizado porque el agente activo tiene el grupo metilo C_{25} en la configuración de R.
7. Usar de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 5, caracterizado porque el agente activo tiene el grupo metilo C_{25} en la configuración de S.
8. Los compuestos de la fórmula general II como se definió en la Reivindicación 1, caracterizado porque el grupo R se seleccionó a

partir del alquilcarbonilo; o alcoxycarbonilo; caracterizado porque cualquier grupo alquilo es opcionalmente sustituido con arilo, amino, alcoxycarbonilamino, mono-alquil-amino-di-alquil-amino, N-alquil,N-alcoxycarbonil-amino, o un residuo de ácido carboxílico (-COOH), o cualquier combinación del mismo; siempre y cuando:

R no sea acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C_3 sea α y de C_{25} sea S;

R no sea etoxycarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C_3 es S (β) y de C_{25} es R;

R no sea succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C_3 es S (β) y de C_{25} es S o la estereoquímica de C_3 es R (α) o S (β) y de C_{25} es R; y

R no es propionilo, butirilo, valerilo, isovalerilo, caproilo, isocaproilo, dietilacetilo, octanoilo, decanoilo, laurilo, miristilo, palmitilo, estearilo, benzoilo, fenilacetilo, fenilpropionato, cinnamato, p-nitrobenzoato, 3,5-dinitrobenzoato, p-clorobenzoato, 2,4-diclorobenzoilo, p-bromobenzoilo, m-bromobenzoilo, p-metoxibenzoilo, furoilo, ftalilo cuando la estereoquímica de C_{25} es R y la estereoquímica de C_3 es (β);

incluyendo, sujeto a las cláusulas anteriormente mencionadas, todos los estereoisómeros y mezclas racémicas de los mismos, y las sales de los mismos.

9. Los compuestos de la fórmula II como se define en la Reivindicación 1, caracterizado porque el grupo R se seleccionó del alquilcarbonilo menor y del alcoxycarbonilo menor, opcionalmente sustituidos con

un residuo (-COOH) de ácido carboxílico terminal.

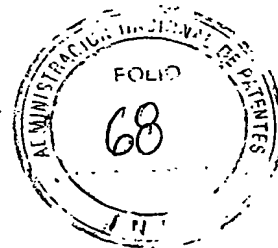
10. Los compuestos como se reivindican en las Reivindicaciones 8 ó 9, caracterizados porque el grupo metilo C₂₅ se encuentra en la configuración de R.
11. Los compuestos como se reivindican en las Reivindicaciones 8 ó 9, caracterizados porque el grupo metilo C₂₅ se encuentra en la configuración S.
12. Un compuesto seleccionado a partir del catilato de epiesmilagenina, catilato de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina, acetato de episarsasapogenina, succinato de episarsasapogenina, glicinato de sarsasapogenina, glicinato de episarsasapogenina, glicinato de esmilagenina, glicinato de epiesmilagenina, alaninato de sarsasapogenina, alaninato de episarsasapogenina, alaninato de esmilagenina, alaninato de epiesmilagenina, valinato de sarsasapogenina, valinato de episarsasapogenina, valinato de esmilagenina, valinato de epiesmilagenina, fenilalaninato de sarsasapogenina, fenilalaninato de episarsasapogenina, fenilalaninato de esmilagenina, fenilalaninato de epiesmilagenina, isoleucinato de sarsasapogenina, isoleucinato de episarsasapogenina, isoleucinato de esmilagenina, isoleucinato de epiesmilagenina, metioninato de sarsasapogenina, metioninato de episarsasapogenina, metioninato de esmilagenina, metioninato de epiesmilagenina y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
13. Los compuestos de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 8 a 12, para usarlos como medicamento.

14. Un método de los compuestos sintetizantes de la fórmula II, aparte de aquellas con $R = H$, que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II en la cual $R = H$ con un compuesto de la fórmula.

$L-R$,

en el cual R se selecciona a partir de alquilocarbonilo; o alcoxycarbonilo; caracterizado porque cualquier grupo alquilo es opcionalmente sustituido con arilo, amino, mono-alquil-amino, di-alquil-amino, un residuo de ácido carboxílico ($-COOH$), o cualquier combinación del mismo; y L es un grupo saliente, bajo condiciones adecuadas para sustitución nucleofílica.

15. Un método de acuerdo a la Reivindicación 14, caracterizado porque el compuesto $L-R$ es un ácido carboxílico, un anhídrido, o un haluro de acilo.
16. Un método para sintetizar un derivado de sapogenina esteroidea, que comprende tratar una sapogenina esteroidea seleccionada con etilcloroformato en presencia de una base para formar el derivado de 3-etoxycarbonilo.
17. Un método de acuerdo a la Reivindicación 16, caracterizado porque dicha base consiste en piridina seca disuelta en diclorometano seco
18. La síntesis del catilato de epiesmilagenina a partir de la epiesmilagenina por reacción con etilcloroformato o reactivo perteneciente y una base.
19. La síntesis del catilato de sarsasapogenina a partir de sarsasapogenina por reacción con etilcloroformato o reactivo



relacionado y una base.

20. La síntesis del catilato de episarsasapogenina a partir de episarsasapogenina por reacción con etilcloroformato o reactivo perteneciente y una base.
21. La síntesis de succinato de episarsasapogenina a partir de episarsasapogenina por reacción con anhídrido succínico o reactivo relacionado y una base.
22. El uso de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las Reivindicaciones de la 9 a la 12 o una sal medicinalmente aceptable del mismo en la elaboración de un medicamento para aumentar el número de receptores, o recambio o aumentar la función de receptores, en un animal humano o no humano.
23. Una composición que tiene actividad contra la neurodegeneración no cognitiva, degeneración neuromuscular no cognitiva, o pérdida del receptor en la ausencia de deficiencia cognitiva, neural o neuromuscular, en un animal humano o no humano, que comprende una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula general II como se define en cada una de las Reivindicaciones de la 1 a la 12, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
24. Una composición que tiene actividad contra la disfunción cognitiva en un animal humano o no humano, que comprende una dosificación efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 12, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; siempre y cuando R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente



la estereoquímica de C_3 sea α y de C_{25} sea S; R no es etoxycarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C_3 sea S(β) y de C_{25} sea R; y R no es succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C_3 es S(β) y de C_{25} sea S o el esteroquímico de C_3 sea R (α) y de C_{25} sea R.

25. Una composición farmacéutica que comprende un cantidad farmacológicamente efectiva de uno o más compuestos de la fórmula II como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de la 8 a la 12, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
26. Un producto alimenticio, suplemento alimenticio o bebida que comprende una cantidad farmacológicamente efectiva de uno o más compuestos de la fórmula II como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de la 8 a la 12, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
27. Una composición que tiene función cognitiva que aumenta las propiedades que comprende una cantidad farmacológicamente efectiva de uno o más de catilato de epiesmilagenina, catilato de sarsasapogenina, catilato de episarsasapogenina, acetato de episarsasapogenina, succinato de episarsasapogenina, glicinato de sarsasapogenina, glicinato de episarsasapogenina, glicinato de esmilagenina, glicinato de epiesmilagenina, alaninato de sarsasapogenina, alaninato de episarsasapogenina, alaninato de esmilagenina, alaninato de epiesmilagenina, valinato de sarsasapogenina, valinato de episarsasapogenina, valinato de esmilagenina, valinato de epiesmilagenina, fenilalaninato de

sarsapogenina, fenilalaninato de episarsapogenina, fenilalaninato de esmilagenina, fenilalaninato de epiesmilagenina, isoleucinato de sarsapogenina, isoleucinato de episarsapogenina, isoleucinato de esmilagenina, isoleucinato de epiesmilagenina, metioninato de sarsapogenina, metioninato de episarsapogenina, metioninato de esmilagenina, metioninato de epiesmilagenina o de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

28. Un medicamento que contiene uno o más catilato de epiesmilagenina, catilato de sarsapogenina, catilato de episarsapogenina, acetato de episarsapogenina, succinato de episarsapogenina, glicinato de sarsapogenina, glicinato de episarsapogenina, glicinato de esmilagenina, glicinato de epiesmilagenina, alaninato de sarsapogenina, alaninato de episarsapogenina, alaninato de esmilagenina, alaninato de epiesmilagenina, valinato de sarsapogenina, valinato de episarsapogenina, valinato de esmilagenina, valinato de epiesmilagenina, fenilalaninato de sarsapogenina, fenilalaninato de episarsapogenina, fenilalaninato de esmilagenina, fenilalaninato de epiesmilagenina, isoleucinato de sarsapogenina, isoleucinato de episarsapogenina, isoleucinato de esmilagenina, isoleucinato de epiesmilagenina, metioninato de sarsapogenina, metioninato de episarsapogenina, metioninato de esmilagenina, metioninato de epiesmilagenina o de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

29. Un método para tratar o prevenir la neurodegeneración no cognitiva,

degeneración neuromuscular no cognitiva, o pérdida del receptor en ausencia de deficiencia cognitiva, neural o neuromuscular, en un animal humano o no humano que lo necesita, que comprende administrar a dicho animal humano o no humano una dosis efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 12, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.

30. Un método para tratar o prevenir la disfunción cognitiva en un animal humano o no humano que lo necesita, que comprende administrar a dicho animal humano o no humano una dosis efectiva de un compuesto de la fórmula general II como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, siempre y cuando R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C₃ sea una α y de C₂₅ sea S; R no es etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es R; y R no es succinilo, cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es S o la estereoquímica de C₃ es R (α) y de C₂₅ es R.
31. Un método para el tratamiento de la disfunción cognitiva en un paciente que sufre de: Enfermedad de Alzheimer, SDAT, AAMI, demencia de Lewi o autismo, cuyo método comprende administrar al paciente una cantidad farmacológicamente efectiva de un compuesto de la fórmula II como se define en cada una de las Reivindicaciones de la 1 a la 12, o de una sal farmacéuticamente aceptable de las

mismas, siempre y cuando: R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C₃ sea α y de C₂₅ sea S; R no es etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es R; y R no es un succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es S o la estereoquímica de C₃ es R (α) y de C₂₅ es R.

32. Un método para aumentar la función cognitiva en un animal humano o no humano, cuyo método comprende el administrar al paciente una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula II como se define en cualquier de las Reivindicaciones de la 1 a la 12, o de una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas; siempre y cuando: R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C₃ sea α y de C₂₅ sea S; R no es etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es R; y R no es succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es S o la estereoquímica de C₃ es R (α) y de C₂₅ es R.
33. Un método de acuerdo a la Reivindicación 32, caracterizado porque el tratamiento es un método no terapéutico practicado en un sujeto normal, para aumentar la función cognitiva del sujeto.
34. Un método para el tratamiento de (i) neurodegeneración no cognitiva (ii) degeneración neuromuscular no cognitiva, o (iii) pérdida de receptor en ausencia de deficiencia cognitiva, neural o neuromuscular, en un animal humano o no humano en un paciente

que sufre de: Enfermedad de Parkinson, Miastenia Grave, Enfermedad de Eaton Lambert, hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Huntington, distrofia muscular, incluyendo distrofia muscular facioescapulohumeral (FSH), distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker y distrofia muscular de Bruce, distrofia de Fuch, distrofia miotónica, distrofia corneal, síndrome de distrofia simpática refleja (RSDSA), distrofia neurovascular, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple, degeneración macular, asma, y susceptibilidad a insuficiencia cardíaca, cuyo método comprende administrar al paciente una cantidad farmacológicamente efectiva de un compuesto de la fórmula II como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de 1 a la 12, o de una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

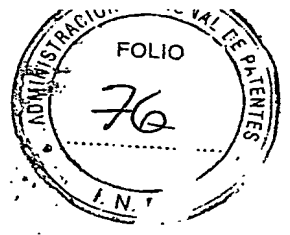
35. Uso de uno o más compuestos de la fórmula II como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 12, o de una sal farmacéuticamente aceptable de la misma como un ingrediente en una composición farmacéutica, producto alimenticio, suplemento alimenticio o bebida en un método para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, Miastenia Grave, enfermedad de Eaton Lambert, hipotensión postural, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Huntington, distrofia muscular incluyendo distrofia muscular facioescapulohumeral (FSH), distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker y distrofia muscular de Bruce, distrofia de Fuch, distrofia miotónica, distrofia corneal, síndrome de distrofia simpática refleja (RSDSA), distrofia

neurovascular, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple, degeneración macular, asma, y susceptibilidad a insuficiencia cardíaca.

36. Uso de uno o más compuestos de la fórmula II como se define en cada una de las Reivindicaciones de la 1 a la 12 o de una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, siempre y cuando R no sea hidrógeno o acetilo no sustituido a menos que simultáneamente la estereoquímica de C₃ sea α y de C₂₅ sea S; R no es etoxicarbonilo no sustituido cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es R; y R no es succinilo cuando simultáneamente la estereoquímica de C₃ es S(β) y de C₂₅ es S o la estereoquímica de C₃ es R (α) y de C₂₅ es R; como un ingrediente en una composición farmacéutica, producto alimenticio, suplemento alimenticio o bebida en un método para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, SDAT, AAMI, MCI y autismo.
37. Un método para aumentar la función cognitiva en un paciente que sufre de disfunción cognitiva relacionada con la edad, que comprende administrar al paciente una dosis farmacológicamente efectiva de un compuesto como se define en cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 12.
38. Un método como se reivindica en las Reivindicaciones 30, 31, 32 ó 36, que es para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o una demencia senil del tipo Alzheimer.
39. Un método para el tratamiento de: Enfermedad de Parkinson, demencia de Lewi, hipotensión postural, autismo, síndrome de fatiga

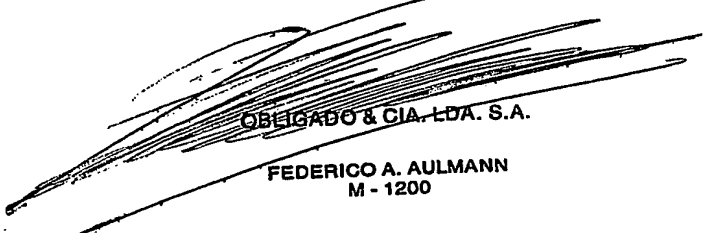
crónica, Miastenia Grave, Enfermedad de Eaton Lambert, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, asma, insuficiencia cardíaca, epilepsia y enfermedades y problemas asociados con la edad, cuyo método comprende la administración a un paciente de una cantidad farmacológicamente efectiva de un compuesto como se define en cada una de las Reivindicaciones de la 9 a la 12, incluyendo una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

40. Un método para el tratamiento de: Enfermedad de Parkinson, demencia de Lewi, hipotensión postural, autismo, síndrome de fatiga crónica, miastenia grave, enfermedad de Eaton Lambert, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, asma, insuficiencia cardíaca, epilepsia, y enfermedades y problemas asociados con la edad, cuyo método comprende la administración a un paciente de una cantidad farmacológicamente efectiva de sarsasapogenina.
41. Un método como se reivindica en la Reivindicación 40, caracterizado porque la sarsasapogenina se encuentra en la forma de un extracto de planta, o material de planta pulverizado seco, derivado de una planta de genus Smilax, Asparagus, Anemarrhena, Dioscorea, Yucca o Agave.
42. Un método de acuerdo a la Reivindicación 40 ó 41, que comprende la administración de un producto alimenticio o bebida que contenga una dosis efectiva de sarsasapogenina.
43. El uso de sarsasapogenina como un ingrediente en un producto alimenticio o bebida en un método para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, demencia de Lewi, hipotensión postural,



autismo, síndrome de fatiga crónica, miastenia grave, enfermedad de Eaton Lambert, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, asma, insuficiencia cardíaca, epilepsia, y enfermedades y problemas asociados a la edad.

BUENOS AIRES, MARZO DE 2002.


OBLIGADO & CIA. LDA. S.A.
FEDERICO A. AULMANN
M - 1200



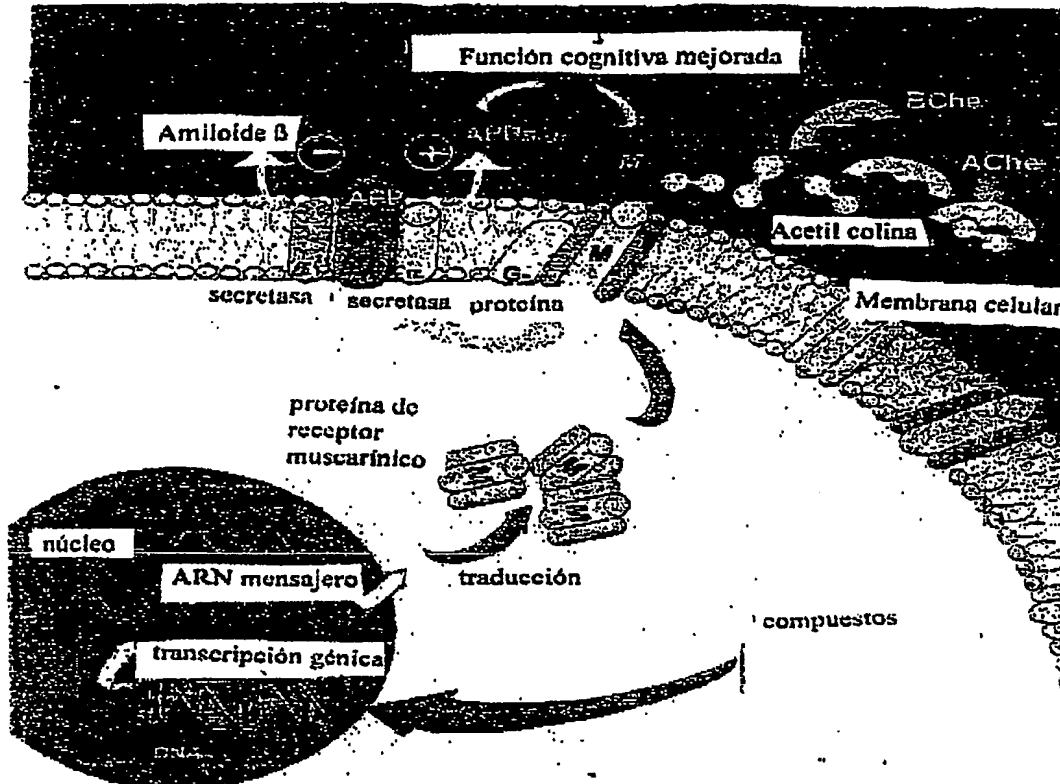
RESUMEN

La invención revela ciertas sapogeninas esteroideas y derivados de las mismas, y su uso en el tratamiento de la disfunción cognitiva, neurodegeneración no cognitiva, degeneración neuromuscular no cognitiva, y pérdida de receptor en la ausencia de deficiencia cognitiva, neural y neuromuscular. También se divulgan los métodos de síntesis, tratamiento y composiciones farmacéuticas.



Figure 1

1/3



2/3



Figure 2

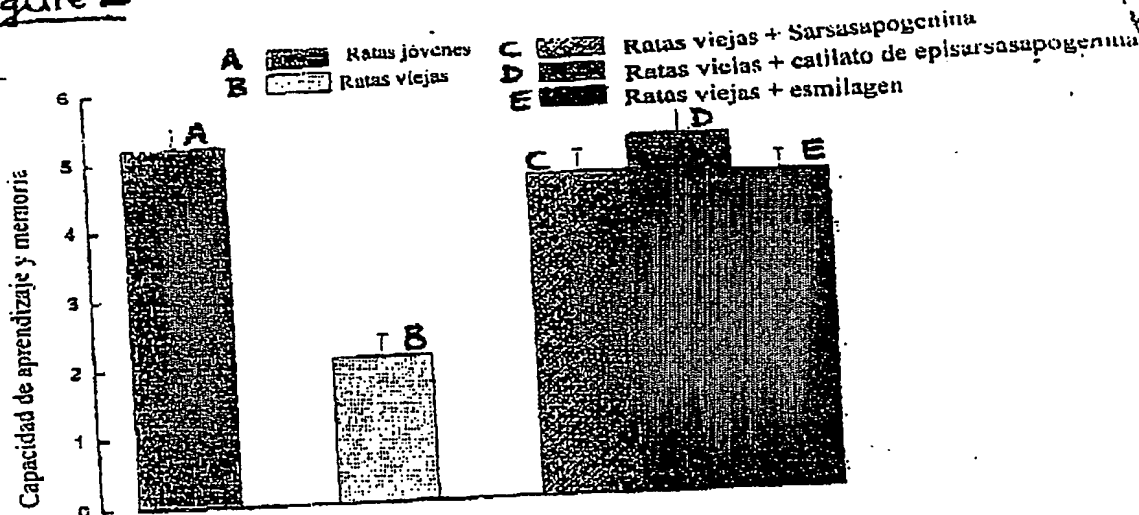
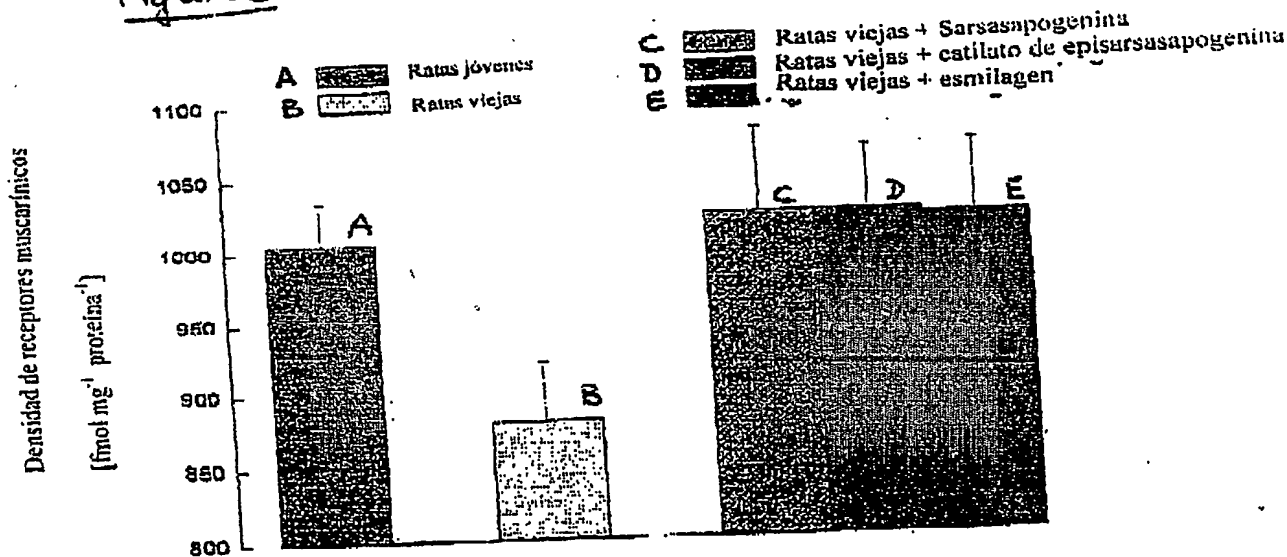


Figure 3



3/3



Figure 4

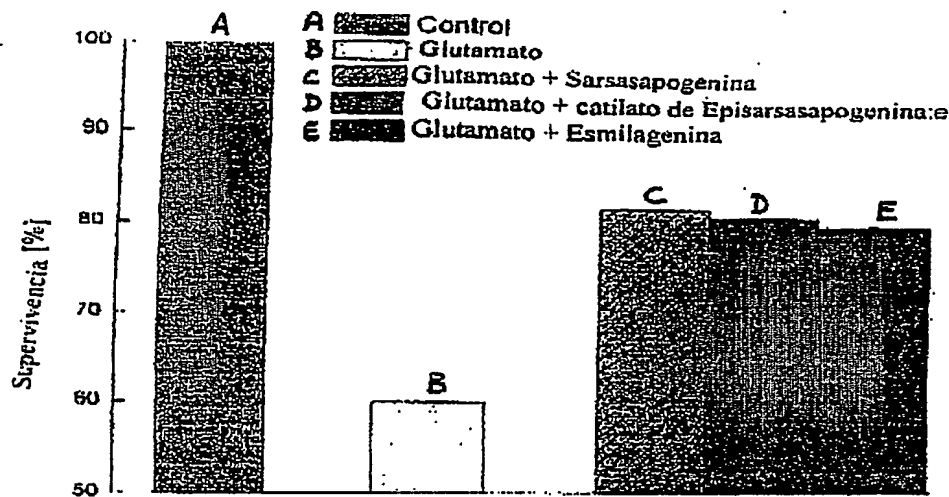
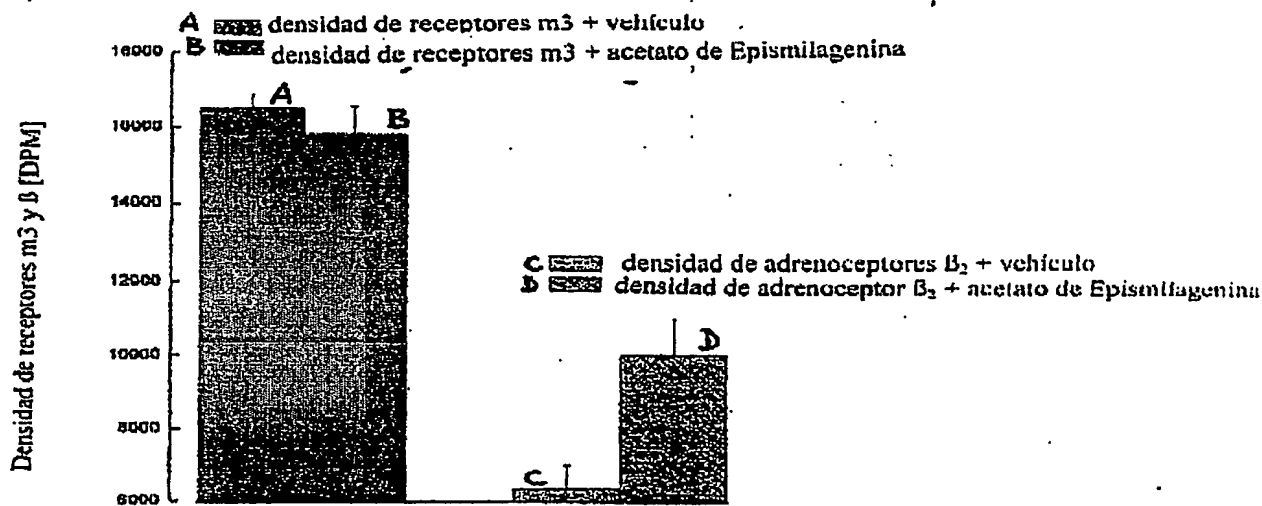


Figure 5



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.